



ANNEE 2002 THESE : 2002 – TOUT 3 – 4165

L'HEPATOOONOSE CANINE : SYNTHESE DES DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2002
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Vanessa, Marie-Laure, Emily PORTRON
Née, le 1^{er} avril 1973 à PERPIGNAN (Pyrénées-Orientales)

Directeur de thèse : M. le Professeur Michel FRANC

JURY

PRESIDENT :
M. Jean-Paul SEQUELA

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
M. Michel FRANC
Mlle Marie-Christine CADIERGUES

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

SOMMAIRE

INTRODUCTION	p.19
--------------	------

1 ^{ère} PARTIE :DEFINITION, HISTORIQUE, REPARTITION GEOGRAPHIQUE	p.21
--	------

CHAPITRE I : DEFINITION	p.23
-------------------------	------

CHAPITRE II : HISTORIQUE-REPARTITION GEOGRAPHIQUE	p.25
---	------

2 ^{ème} PARTIE : ETIOLOGIE	p.27
-------------------------------------	------

CHAPITRE I : ELEMENTS DE CLASSIFICATION	p.31
---	------

<u>A. PLACE DANS LA SYSTEMATIQUE</u>	p.31
--------------------------------------	------

<u>B. LE GENRE <i>Hepatozoon</i></u>	p.33
--------------------------------------	------

1. RAPPEL HISTORIQUE	p.23
----------------------	------

2. POSITIONNEMENT DU GENRE <i>Hepatozoon</i> DANS LA SYSTEMATIQUE. NOTION DE « COMPLEXE HEMOGREGARINE »	p.33
--	------

3. PLACE DU GENRE <i>Hepatozoon</i> EN TANT QUE PARASITE DU REGNE ANIMAL	p.35
---	------

CHAPITRE II : CYCLES BIOLOGIQUES D'<i>Hepatozoon canis</i> ET D'<i>Hepatozoon americanum</i>	p.39
---	------

A. CYCLE D'*Hepatozoon canis* CHEZ LE CHIEN ET CHEZ LA TIQUE

Rhipicephalus sanguineus p.39

1. CHEZ LA TIQUE : FECONDATION ET SPOROGENIE p.41

1.a. Phases de gamétogonie et de fécondation p.41

1.b. Phase de sporogonie (ou sporulation de l'oeuf) p.41

2. CHEZ LE CHIEN : SCHIZOGONIE ET GAMOGONIE p.43

2.a. Phase de schizogonie (= mérogonie) p.43

2. b. Phase de gamogonie p.45

B. CYCLE D'*Hepatozoon americanum* CHEZ LE CHIEN ET

CHEZ LA TIQUE *Amblyomma maculatum* p.46

1. CHEZ LA TIQUE : FECONDATION ET SPOROGENIE p.48

1. a. Gamétogénèse et fécondation p.48

1. b. Sporogonie p.49

2. CHEZ LE CHIEN p.50

CHAPITRE III : MORPHOLOGIE DES STADES EVOLUTIFS D'<i>Hepatozoon canis</i> ET <i>Hepatozoon americanum</i>	p.55
--	------

A. GAMETOCYTE p.55

1. NATURE DE LA CELLULE-HÔTE p.55

2. MORPHOLOGIE EN MICROSCOPIE OPTIQUE p.56

3. MORPHOLOGIE EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE p.57

4. MENSURATIONS p.59

B. SCHIZONTE p.60

1. SCHIZONTE D'*Hepatozoon canis* p.60

1. a. Microschizontes p.60

1. b. Macroschizontes p.62

2. SCHIZONTE D'*Hepatozoon americanum* p.62

C. SCHIZOZOÏTE p.64

1. SCHIZOZOÏTE D'*Hepatozoon canis* p.64

2. SCHIZOZOÏTE D' <i>Hepatozoon americanum</i>	p.65
<u>D. OOKYSTE</u>	p.65
1. OOKYSTE D' <i>Hepatozoon canis</i>	p.65
2. OOKYSTE D' <i>Hepatozoon americanum</i>	p.66
CHAPITRE IV : CULTURE	p.67
CHAPITRE V : ELEMENTS DE SEPARATION ENTRE <i>Hepatozoon canis</i> ET <i>Hepatozoon americanum</i>	p.69
<u>A. ELEMENTS MORPHOLOGIQUES ET BIOLOGIQUES</u>	p.69
1. MORPHOLOGIE ET LOCALISATION TISSULAIRE DES STADES SCHIZOGONIQUES D' <i>Hepatozoon canis</i> ET D' <i>Hepatozoon americanum</i>	p.69
2. MORPHOLOGIE ET FREQUENCE DE DETECTION DES GAMETOCYTES	p.70
3. MORPHOLOGIE DES OOKYSTES	p.70
4. IDENTITE DU VECTEUR ARTHROPODE	p.70
<u>B. ELEMENTS CLINIQUES ET LESIONNELS</u>	p.71
<u>C. ELEMENTS GENETIQUES</u>	p.72
<u>D. ELEMENTS ANTIGENIQUES</u>	p.72
3^{ème} PARTIE : EPIDEMIOLOGIE	p.73
CHAPITRE I : EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE	p.75
<u>A. POPULATION AFFECTEE</u>	p.75
<u>B. REPARTITION DANS LE TEMPS</u>	p.77
<u>C. REPARTITION DANS L'ESPACE</u>	p.78
<u>D. ALLURE DE LA MALADIE</u>	p.79
CHAPITRE II : EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE	p.83
<u>A. SOURCE D'AGENTS</u>	p.83

1. <u>HEPATOZOONOSE A <i>Hepatozoon canis</i></u>	p.83
2. <u>HEPATOZOONOSE A <i>Hepatozoon americanum</i></u>	p.84
<u>B. MODALITES DE TRANSMISSION</u>	p.84
<u>1. TRANSMISSION NATURELLE</u>	p.84
<u>1. a. Transmission par vecteur arthropode hématophage</u>	p.84
<u>α /Arthropodes vecteurs d'<i>Hepatozoon canis</i></u>	p.84
α. 1. <i>Rhipicephalus sanguineus</i> : vecteur principal d' <i>H. canis</i>	p.84
α. 1. 1. Rappel de taxonomie	p.85
α. 1. 2. Morphologie	p.85
α. 1. 3. Habitat et distribution géographique	p.87
α. 1. 4. Hôtes - distribution sur l'hôte	p.87
α.1. 5. Cycle	p.88
α.1. 6. Période d'activité	p.88
α. 1. 7. Transmission d' <i>Hepatozoon canis</i>	p.90
α. 2. Autres vecteurs tiques d' <i>Hepatozoon canis</i>	p.91
β. Arthropodes vecteurs d' <i>Hepatozoon americanum</i>	p.92
β. 1. <i>Amblyomma maculatum</i> : vecteur principal d' <i>H. americanum</i>	p.92
β. 1. 1. Rappel de taxonomie	p.92
β. 1. 2. Morphologie	p.92
β. 1. 3. Habitat et distribution géographique	p.93
β. 1. 4. Hôtes	p.93
β. 1. 5. Cycle	p.94
β. 1. 6. Transmission d' <i>Hepatozoon americanum</i>	p.96
β. 2. Autres vecteurs tiques d' <i>Hepatozoon americanum</i>	p.97
<u>1. b. Autres modes de transmission naturelle</u>	p.97
α. Transmission transplacentaire	p.97
β. Transmission par ingestion de muscle infecté (carnivorisme)	p.98
<u>2. TRANSMISSION EXPERIMENTALE</u>	p.99
<u>2. a. Transmission expérimentale d'<i>Hepatozoon canis</i></u>	p.99
<u>2. b. Transmission expérimentale d'<i>Hepatozoon americanum</i></u>	p.100

<u>C. RECEPTIVITE DE L'HOTE</u>	p.100
<u>1. ESPECE</u>	p.100
<u>2. RACE</u>	p.101
<u>3. SEXE</u>	p.101
<u>4. AGE</u>	p.101
<u>5. AFFECTIONS INTERCURRENTES</u>	p.102
CHAPITRE III : EPIDEMIOLOGIE SYNTHETIQUE	p.105
<u>A. EPIDEMIOLOGIE SYNTHETIQUE DE L'HEPATOZOONOSE</u>	
<u><i>A Hepatozoon canis</i></u>	p.105
<u>1. CYCLE EPIDEMIOLOGIQUE</u>	p.105
<u>2. EVOLUTION DANS L'ESPACE</u>	p.106
<u>B. EPIDEMIOLOGIE SYNTHETIQUE DE L'HEPATOZOONOSE</u>	
<u><i>A Hepatozoon americanum</i></u>	p.107
<u>1. CYCLE EPIDEMIOLOGIQUE</u>	p.107
<u>2. EVOLUTION DANS L'ESPACE</u>	p.108
4^{ème} PARTIE : LA MALADIE	p.109
CHAPITRE I : SYMPTOMATOLOGIE CLINIQUE	p.111
<u>A. GRAVITE - EVOLUTION DE LA MALADIE</u>	p.111
<u>1. HEPATOZOONOSE A <i>Hepatozoon canis</i></u>	p.111
<u>2. CAS DE L'HEPATOZOONOSE NORD-AMERICAINE</u>	
<u><i>A Hepatozoon americanum</i></u>	p.112
<u>3. RELATION PARASITEMIE/INTENSITE DES SYMPTOMES</u>	p.113
<u>B. TABLEAU CLINIQUE</u>	p.114
<u>1. HYPERTHERMIE</u>	p.115
<u>2. ABATTEMENT-FATIGABILITE</u>	p.115
<u>3. ANOREXIE-PERTE DE POIDS</u>	p.115
<u>4. PROBLEMES LOCOMOTEURS</u>	p.116
<u>5. JETAGE OCULO-NASAL, PROBLEMES OCULAIRES</u>	p.116

<u>6. TROUBLES DIGESTIFS</u>	p.117
<u>7. AUTRES SYMPTOMES</u>	p.117

CHAPITRE II : MODIFICATIONS HEMATOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES	p.119
---	-------

<u>A. MODIFICATIONS HEMATOLOGIQUES</u>	p.119
<u>1. ANEMIE</u>	p.119
<u>2. LEUCOCYTOSE AVEC NEUTROPHILIE</u>	p.119
<u>3. AUTRES MODIFICATIONS HEMATOLOGIQUES</u>	p.121
<u>B. MODIFICATIONS BIOCHIMIQUES</u>	p.121
<u>1. PHOSPHATASES ALCALINES</u>	p.121
<u>2. CREATINE PHOSPHO-KINASES</u>	p.122
<u>3. GLYCEMIE</u>	p.122
<u>4. UREMIE</u>	p.122
<u>5. ALBUMINEMIE</u>	p.123
<u>6. PROTEINES TOTALES SERIQUES</u>	p.123
<u>7. PHOSPHATEMIE – CALCEMIE</u>	p.123
<u>8. PROTEINURIE</u>	p.123

CHAPITRE III : SIGNES RADIOLOGIQUES	p.125
--	-------

CHAPITRE IV : LESIONS	p.127
------------------------------	-------

<u>A. LESIONS MACROSCOPIQUES</u>	p.127
<u>1. LESIONS MACROSCOPIQUES COMMUNES A L'INFECTION PAR <i>Hepatozoon canis</i> ET A L'INFECTION PAR <i>Hepatozoon americanum</i></u>	p.127
<u>2. LESIONS MACROSCOPIQUES SPECIFIQUES A L'INFECTION PAR <i>Hepatozoon americanum</i> : LESIONS D'OSTEOPROLIFERATION PERIOSTEE</u>	p.127
<u>B. LESIONS MICROSCOPIQUES</u>	p.129
<u>1. LESIONS MICROSCOPIQUES DUES A <i>Hepatozoon canis</i></u>	p.129
<u>1.a. Mise en évidence de stades schizogoniques d'<i>Hepatozoon canis</i></u>	p.129
<u>1.b. Lésions histopathologiques</u>	p.129

2. LESIONS MICROSCOPIQUES DUES A <i>Hepatozoon americanum</i>	p.130
2. a. Mise en évidence de stades schizogoniques d' <i>Hepatozoon americanum</i>	p.130
2. b. Lésions histopathologiques	p.131
α. Lésions musculaires	p.131
β. Lésions osseuses	p.131
γ. Autres lésions	p.132
CHAPITRE V : PATHOGENIE-IMMUNITE	p.135
<u>A. PATHOGENIE</u>	p.135
1. ROLE PATHOGENE DIRECT DU PARASITE	p.135
2. PATHOGENIE DES LESIONS OSSEUSES DUES A <i>Hepatozoon americanum</i>	p.136
3. ROLE DU SYSTEME IMMUNITAIRE DANS LE CONTROLE DE LA MALADIE	p.137
<u>B. POUVOIR ANTIGENE D'<i>Hepatozoon canis</i> ET D'<i>Hepatozoon americanum</i> - CINETIQUE DES ANTICORPS</u>	p.138
CHAPITRE VI : DIAGNOSTIC	p.139
<u>A. DIAGNOSTIC CLINIQUE</u>	p.139
<u>B. DIAGNOSTIC NECROPSIQUE</u>	p.139
<u>C. MISE EN EVIDENCE DU PARASITE</u>	p.140
1. MISE EN EVIDENCE DES GAMETOCYTES SUR FROTTIS SANGUIN OU CALQUE D'ORGANES	p.140
2. MISE EN EVIDENCE DES SCHIZONTES D' <i>Hepatozoon americanum</i> SUR BIOPSIE MUSCULAIRE	p.142
3. MISE EN EVIDENCE DES SCHIZONTES D' <i>Hepatozoon canis</i> SUR BIOPSIE OU PONCTION D'ORGANES	p.143
<u>D. DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE</u>	p.144
1. MISE EN EVIDENCE DES ANTICORPS ANTI <i>Hepatozoon canis</i> PAR LA TECHNIQUE D'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (I.F.I.)	p.144
2. MISE EN EVIDENCE DES ANTICORPS ANTI- <i>Hepatozoon americanum</i> PAR LA TECHNIQUE E.L.I.S.A.	p.146

3. IMMUNOTRANSFERT OU WESTERN BLOT	p.147
<u>E. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL</u>	p.148
CHAPITRE VII : TRAITEMENT-PROPHYLAXIE	p.151
<u>A. TRAITEMENT</u>	p.151
1. TRAITEMENT ETIOLOGIQUE	p.151
2. TRAITEMENT ADJUVANT	p.154
<u>B. PROPHYLAXIE</u>	p.155
1. SANITAIRE	p.155
2. MEDICALE	p.155
CHAPITRE VIII : PRONOSTIC	p.157
<u>A. HEPATOZOONOSE A <i>Hepatozoon canis</i></u>	p.157
<u>B. HEPATOZOONOSE A <i>Hepatozoon americanum</i></u>	p.157
CONCLUSION	p.159

TABLE DES ILLUSTRATIONS

<u>FIGURE 1</u> :	Cycle d' <i>Hepatozoon canis</i> .	p.40
<u>FIGURE 2</u> :	<i>Hepatozoon canis</i> : étapes du développement chez la tique, <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .	p.42
<u>FIGURE 3</u> :	Schizogonie d' <i>Hepatozoon canis</i> .	p.44
<u>FIGURE 4</u> :	Cycle d' <i>Hepatozoon americanum</i> .	p.47
<u>FIGURE 5</u> :	Photo du gamétocyte d' <i>Hepatozoon canis</i> en microscopie optique.	p.56
<u>FIGURE 6</u> :	Schéma du gamétocyte d' <i>Hepatozoon canis</i> ou d' <i>Hepatozoon americanum</i> en microscopie électronique – forme caractéristique à 2 branches.	p.58
<u>FIGURE 7</u> :	Schéma du gamétocyte d' <i>Hepatozoon canis</i> ou d' <i>Hepatozoon americanum</i> en microscopie électronique – autres formes.	p.58
<u>FIGURE 8</u> :	Photo d'un schizonte d' <i>Hepatozoon canis</i> en microscopie optique.	p.61
<u>FIGURE 9</u> :	Kyste en « peau d'oignon » d' <i>Hepatozoon americanum</i> .	p.63
<u>FIGURE 10</u> :	Kyste mucopolysaccharidique chez un chien atteint d'hépatozoonose nord-américaine.	p.63
<u>FIGURE 11</u> :	Kyste mucopolysaccharidique contenant un schizonte d' <i>Hepatozoon americanum</i> .	p.63
<u>FIGURE 12</u> :	Prévalence de la maladie dans différents pays en fonction de la technique de dépistage.	p.80
<u>FIGURE 13</u> :	Morphologie de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .	p.86
<u>FIGURE 14</u> :	Cycle de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .	p.89
<u>FIGURE 15</u> :	Morphologie d' <i>Amblyomma maculatum</i> .	p.93
<u>FIGURE 16</u> :	Cycle d' <i>Amblyomma maculatum</i> .	p.95
<u>FIGURE 17</u> :	Fréquence d'observation des symptômes dans l'hépatozoonose à <i>H. canis</i> et à <i>H. americanum</i> .	p.118
<u>FIGURE 18</u> :	Technique de Leucoconcentration modifiée de Cabassu et Harotunian.	p.141

INTRODUCTION

L'hépatozoonose canine est une maladie du chien souvent méconnue et présente dans le Sud-Est de la France où nous exerçons. La symptomatologie assez fruste de cette maladie fait qu'elle est probablement sous-diagnostiquée et c'est pourquoi il nous a paru intéressant de réaliser une synthèse des données bibliographiques concernant l'hépatozoonose à travers le monde.

Après avoir défini l'hépatozoonose et présenté sa distribution géographique, nous étudierons les agents étiologiques responsables de la maladie dans différentes zones du monde.

Nous nous intéresserons dans une troisième partie à l'épidémiologie de la maladie et en particulier à ses vecteurs.

Dans la quatrième partie, nous aborderons enfin l'aspect clinique et lésionnel de la maladie, ainsi que les méthodes de diagnostic et les outils thérapeutiques dont dispose le praticien.

1^{ère} PARTIE :

DEFINITION, HISTORIQUE,
REPARTITION
GEOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : DEFINITION

L'hépatozoonose canine est une protozoose du chien, transmise par l'ingestion de certaines variétés de tiques, et affectant certaines cellules sanguines (monocytes et granulocytes neutrophiles) ainsi que différents organes.

Deux espèces distinctes d'*Hepatozoon* ont été reconnues chez le chien :

- *Hepatozoon canis*, Miller 1908, agent étiologique de l'hépatozoonose canine en Europe, Afrique, Asie, Moyen-Orient et probablement Amérique du Sud, dont le vecteur est la tique *Rhipicephalus sanguineus*.
- *Hepatozoon americanum*, Vincent-Johnson et al. 1997, responsable de l'hépatozoonose décrite aux U.S.A. et transmise par la tique *Amblyomma maculatum*.

L'hépatozoonose canine à *Hepatozoon canis* est une maladie d'évolution capricieuse dont le degré de gravité et l'évolution sont extrêmement variables : souvent asymptomatique et découverte fortuitement sur des animaux en bonne santé apparente, elle peut aussi se traduire par des symptômes modérés voire sévères (avec abattement, hyperthermie, anorexie, amaigrissement, anémie, troubles locomoteurs) et aboutir à une issue dramatique.

L'hépatozoonose canine nord-américaine, due à *Hepatozoon americanum*, se caractérise par un tableau clinique beaucoup plus dramatique qu'ailleurs dans le monde, avec hyperthermie importante, algies intenses, troubles locomoteurs sévères et une issue souvent fatale.

Hepatozoon americanum a longtemps été considéré comme une souche particulièrement virulente d'*Hepatozoon canis* et ce n'est qu'en 1997 qu'il a été désigné comme une nouvelle espèce, distincte d'*H. canis* [160].

CHAPITRE II : HISTORIQUE-REPARTITION GEOGRAPHIQUE

L'hépatozoonose canine est une maladie connue depuis près d'un siècle, commune à de nombreuses régions tropicales, subtropicales et tempérées chaudes de tous les continents (excepté l'Australie).

Le premier cas d'hépatozoonose canine fut observé par Bentley, sur un chien de l'Assam, Inde en 1905 [31]. La même année, James attribua à l'agent causal de cette maladie le nom de *Leucocytozoon canis* [80]. C'est en 1908, à la création du genre par Miller pour *Hepatozoon perniciosum* (= *H. muris*), parasite du rat blanc (*Rattus rattus*), que son nom actuel d'*Hepatozoon canis* lui fut attribué.

Observé par Gerrard (1906) en Malaisie, par Christophers (1906) à Madras, par Mathis et Léger (1909) au Tonkin, par Leboeuf et Ringenbach (1910) au Congo, par Yakimoff et Kohl-Yakimoff (1911) à Tunis, par Wenyon (1911) à Bagdad, par Basile (1913) à Rome [166], le parasite a depuis été retrouvé dans de nombreux pays.

En Asie, le parasite a été observé en Inde [18-72-134], au Sri Lanka [54], en Malaisie [135], aux Philippines [40] et plus récemment au Japon d'où le parasite a été rapporté pour la première fois, chez le chien, en 1991 [119].

En Afrique, *H. canis* a été largement décrit, notamment au Nigeria [Aliu et al., 1976 ; Leeflang et al., 1976 cités par 2-2-66-122], en Egypte [El Hindawy, 1961 ; Fahmy et al., 1977 cités par 2], en Afrique du Sud [106] et au Sénégal [157].

Au Moyen-Orient, la maladie est fréquemment décrite en Israël [17-60-83].

En Europe, c'est essentiellement dans les pays du pourtour méditerranéen que le parasite a été rapporté : en France (cf infra), Italie [55-140], Sardaigne [6-133], Espagne [67-74-80b], Grèce [87] et plus récemment en Suisse [5] et en Allemagne [51].

En Amérique du Sud, la maladie a été décrite au Brésil [70-111-121], au Venezuela [128] et en Argentine [145].

Aux U.S.A., l'hépatozoonose canine est décrite chez le chien depuis 1978 seulement et est à l'heure actuelle considérée comme une maladie émergente du Sud-Est des Etats-Unis.

Elle a tout d'abord été diagnostiquée au Texas, et plus précisément dans la zone côtière du golfe [21-49-68-146] puis dans les états voisins de Louisiane [71], de Pennsylvanie [7] et d'Oklahoma [123-125].

De nombreux cas ont récemment été décrits en Alabama et en Géorgie [97], suggérant que la maladie est en train de s'étendre géographiquement.

En France, où l'infection est décrite depuis longtemps [81], ce sont essentiellement les départements du Sud-Est qui sont concernés, notamment l'Aude [39], les Bouches-du-Rhône [38] et le Gard où un foyer a été particulièrement étudié voici quelques années [27-29].

Connue depuis très longtemps pour avoir une répartition quasi-cosmopolite, l'hépatozoonose semble donc toutefois avoir été détectée pour la première fois très récemment dans certaines régions du monde : Japon (1991), Grèce (1990), Espagne (1990), Allemagne (1997), Amérique latine (Venezuela (1996), Argentine (1999)), extension aux U.S.A..

2^{ème} PARTIE :

ETIOLOGIE

Deux espèces distinctes d'*Hepatozoon* ont été reconnues comme agents étiologiques de l'hépatozoonose chez le chien :

- *Hepatozoon canis*, Miller, 1908, responsable de l'hépatozoonose canine sévissant en Europe, Asie, Afrique, Moyen-Orient et semble-t-il en Amérique du Sud.
- *Hepatozoon americanum*, Vincent-Johnson et al., 1997, agent de l'hépatozoonose décrite depuis 1978 aux U.S.A..

Hepatozoon americanum a été considéré pendant de nombreuses années comme une souche particulièrement virulente d'*Hepatozoon canis* avant d'être identifié, comme étant une espèce différente.

CHAPITRE I : ELEMENTS DE CLASSIFICATION

A. PLACE DANS LA SYSTEMATIQUE

Phylum : Protozoaire
Sub-phylum : Apicomplexa (ou Sporozoa)
Classe : Coccidea
Ordre : Adeleida
Famille : Hepatozoïdae
Genre et espèce : *Hepatozoon canis*
Hepatozoon americanum

PHYLUM : Protozoaires

- êtres unicellulaires eucaryotes à paroi non cellulosique, souvent mobiles, et à développement hétérotrophe
- composé de 7 sous-embranchements dont 5 intéressent la médecine vétérinaire : Sarcomastigophora, Apicomplexa, Microspora, Myxospora, Ciliophora

SUB-PHYLUM : Apicomplexa (ou Sporozoa)

- présence à certains stades (généralement des formes extracellulaires mobiles) d'un complexe apical tout à fait caractéristique, constituant apparemment un organe de pénétration dans une cellule-hôte, mais observable uniquement en microscopie électronique (et à l'origine de la dénomination Apicomplexa)
- un seul type de noyau
- absence d'organites locomoteurs (cils ou flagelles) sauf parfois au stade microgamète
- spores simples ou absentes
- toujours parasites et intracellulaires

- 2 classes à retenir : la classe des Coccidea et la classe des Haematozoa. Une 3^{ème} classe, des Gregarina, ne concerne que des parasites d’Invertébrés, le plus souvent non pathogènes.

CLASSE : Coccidea

- complexe apical complet
- reproduction sexuée (gamétogonie puis sporogonie) et reproduction asexuée (schizogonie)
- trophozoïte mature de petite taille, ordinairement intracellulaire
- production de spores (sauf exception)
- pas de transmission par piquêre d’Arthropodes hématophages
- parasites des cellules épithéliales et sanguines de Vertébrés et d’Invertébrés
- comprend 2 ordres : Adeleida et Eimeriida

ORDRE : Adeleida

- sygygie (= association entre macrogamonte et microgamonte pendant leur développement)
- microgamonte produisant des microgamètes peu nombreux

FAMILLE : Hepatozoïdae

- cycle hétéroxène faisant intervenir un hôte définitif arthropode hématophage et un hôte intermédiaire vertébré, celui-ci se contaminant par ingestion de l’arthropode
- ookyste de grande taille comportant de nombreux sporocystes qui contiennent chacun 4 à 16 sporozoïtes

GENRE : *Hepatozoon*

- Seul genre de la famille

B. LE GENRE *Hepatozoon*

1. RAPPEL HISTORIQUE

Le premier membre du genre à avoir été observé par Bentley en 1905 [31] n'est autre que celui que nous connaissons à l'heure actuelle sous le nom d'*Hepatozoon canis* et que James (1905) avait alors nommé *Leucocytozoon canis* [81].

Mais c'est en 1908 que le genre *Hepatozoon* fut véritablement fondé par Miller pour un parasite du rat blanc de laboratoire. Ce parasite avait été préalablement observé, sans être nommé, par Balfour (1905) sur le rat brun (*Rattus norvegicus*) et également décrit par Adié (1906) chez le rat noir (*Rattus rattus*) et nommé *Leucocytozoon ratti*.

C'est Miller (1908) qui lui donnera son nom définitif d'*Hepatozoon muris* (= *Hepatozoon perniciosum*) et décrira son cycle chez le rat (hôte intermédiaire) et chez l'acarien *Laelaps echidninus* (hôte définitif), fondant alors le genre qui nous intéresse aujourd'hui [166].

Le nom même d'« *Hepatozoon* » fut choisi par Miller en raison des lésions dégénératives marquées du foie qu'il put observer sur le lot de rats soumis à son étude et également en raison du fait que la phase de schizogonie du parasite fut observée exclusivement dans cet organe.

2. POSITIONNEMENT DU GENRE *Hepatozoon* DANS LA SYSTEMATIQUE.

NOTION DE « COMPLEXE HEMOGREGARINE »

Un certain flou a longtemps régné sur la classification exacte du genre *Hepatozoon*, les avis de différents auteurs ayant divergé à ce sujet, jusqu'à il y a peu.

Assigné à l'origine dans la famille des Haemogregarinidae par Léger, 1911, c'est Wenyon le premier en 1926 [166], suivi plus tard par Manwell en 1977 [101], qui individualisa le genre *Hepatozoon* dans la famille des Hepatozoïdae. Levine (1988) cependant continua à proposer de placer le genre *Hepatozoon* dans la famille des Haemogregarinidae, en compagnie des genres *Haemogregarina*, *Karyolysus* et *Cyrlia* [94]. Le terme « hémogregarines » (au sens large) a par ailleurs été longtemps employé pour qualifier les *Hepatozoon*, contribuant à alimenter une certaine confusion sur le sujet.

Les informations accumulées au cours des années concernant le cycle biologique et les différents stades évolutifs de nombreuses espèces d'*Hepatozoon* [53-148-151] ainsi que certaines analyses phylogénétiques, reposant sur des critères morphologiques, biologiques ou moléculaires, [20-102-144-148] tendent à supporter l'hypothèse primitive de Wenyon et à l'heure actuelle les avis convergent pour classer le genre *Hepatozoon* comme seul et unique genre constitutif de la famille des Hepatozoïdae [37-62-148].

Par ailleurs, Mathew et al. ont utilisé la séquence génique 18S rRNA afin d'étudier les relations phylogénétiques entre 3 espèces d'*Hepatozoon* (*Hepatozoon canis*, *Hepatozoon americanum* et *Hepatozoon catesbiana*) et divers autres Apicomplexa. Ces analyses moléculaires ont révélé que les 3 espèces d'*Hepatozoon* étudiées forment un groupe monophylétique, très proche de *Plasmodium* et de *Cryptosporidium*, et qui pourrait être placé en position fondamentale par rapport à ces 2 genres. *Hepatozoon* représenterait une position intermédiaire entre les Apicomplexa monoxènes et parasites intestinaux que sont les Coccidies au sens large et les Hemosporida hétéroxènes transmis par piqûres d'Arthropodes [102].

Le terme de « complexe hémogrégarine » est à utiliser pour regrouper un certain nombre d'Adeleida ayant à un moment de leur cycle une localisation sanguine, ce cycle ayant pour caractéristique d'être hétéroxène, c'est-à-dire faisant intervenir un hôte intermédiaire vertébré et un hôte définitif invertébré hématophage [147].

Les genres composant ce « complexe hémogrégarine » sont au nombre de 6 :

Hepatozoon (famille Hepatozoïdae), *Haemogregarina*, *Cyrilia*, *Desseria* (famille Haemogregarinidae), *Karyolysus* et *Hemolivia* (famille Karyolysidae).

Une importante confusion a longtemps régné pour différencier entre eux les membres de ces différents genres, les cycles biologiques étant le plus souvent méconnus et le seul critère dont disposaient les auteurs étant l'observation du gamonte en localisation sanguine chez l'hôte intermédiaire, critère très insuffisant quand on sait que les gamontes de ces différents genres présentent de grandes similitudes.

Actuellement, et ce depuis une quinzaine d'années, une importante révision de ce « complexe hémogrégarines » est menée, se basant sur des analyses phylogénétiques de données morphologiques et biologiques et non plus sur la seule morphologie du gamonte [147].

C'est donc tout récemment que la situation a été clarifiée, et que le genre *Hepatozoon* a vu le nombre d'espèces qu'il contient s'accroître de façon importante d'une part parce que quelques espèces nouvelles ont été décrites (une quinzaine depuis 1988) mais surtout par le biais de divers transferts intergénériques à l'intérieur de ce « complexe hémogregarine ».

3. PLACE DU GENRE *Hepatozoon* EN TANT QUE PARASITE DU REGNE ANIMAL

Sur la base de caractères morphologiques, de la spécificité d'hôte et de données relatives au cycle vital du parasite chez ses hôtes intermédiaire et définitif, plus de 300 espèces sont aujourd'hui assignées au genre *Hepatozoon* [147].

Cependant, au vu d'analyses phylogénétiques, certains auteurs ont suggéré que le genre *Hepatozoon* pourrait être subdivisé en au moins 2 genres distincts [20-102-144-147-148-151].

Toutes les classes de Vertébrés terrestres sont susceptibles d'héberger, en tant qu'Hôte intermédiaire, des parasites du genre *Hepatozoon* [147].

Ce sont :

- Les Mammifères

Une grande variété de Mammifères peut héberger des espèces différentes d'*Hepatozoon* (47 espèces décrites).

Ainsi, des *Hepatozoon* ont été décrits chez les Marsupiaux ; les Insectivores (musaraignes, taupes) ; les Léporidés (lapin, lièvre) ; certains Ruminants (impala, nyala, girafe) mais sont particulièrement fréquents chez les Rongeurs (Sciuridés, Microtidés, Muridés, Procyonidés) et les Carnivores (Canidés, Hyénidés, Félidés, Vivaridés, Mustelidés).

- Les Oiseaux

Les *Hepatozoon* semblent être des parasites assez peu fréquents de cette classe de Vertébrés. 19 espèces sont recensées.

- Les Reptiles

On trouve des *Hepatozoon* chez les :

- Crocodiliens : couramment porteurs d'*Hepatozoon* – 6 espèces décrites.
- Sauriens (ou Lézards) : 74 espèces décrites – on trouve des *Hepatozoon* chez toutes les grandes familles de lézards.

- Ophidiens (ou Serpents) : On dénombre 121 espèces d'*Hepatozoon* décrites chez 200 espèces de serpents des régions tropicales et tempérées. Les *Hepatozoon* sont les parasites sanguins dominants et caractéristiques de ce groupe de Vertébrés et ont été décrits chez presque toutes les familles de serpents.
- Rhynchocéphalidés (sphénodon ou tuatura) : 1 espèce décrite.
- Amphisbénidés : 1 espèce décrite.
- La seule espèce d'*Hepatozoon* décrite chez la tortue (*Hepatozoon mauritanicum*) a récemment été transférée au genre *Hemolivia* et est devenue *Hemolivia mauritanicum* [151].
 - Les Amphibiens
- Anoures : Les *Hepatozoon* sont des parasites communément trouvés chez les grenouilles (Ranidés) et les crapauds (Bufonidés) partout dans le monde – 70 espèces décrites [151].
- Urodèles : 1 espèce d'*Hepatozoon* décrite chez la Salamandre.

Les hôtes définitifs Invertébrés pour les *Hepatozoon* sont nombreux et appartiennent à 2 classes d'Arthropodes hématophages [147]. Ce sont :

- Les Insectes

Un développement sporogonique complet a été observé chez 4 ordres d'Insectes :

- Phthiraptères (poux suceurs) et Siphonaptères (puces), vecteurs de certaines espèces d'*Hepatozoon* infectant des mammifères.
- Hémiptères : punaise triatomide, vecteur d'*Hepatozoon* parasites de lézards.
- Diptères, vecteurs d'*Hepatozoon* parasites de grenouilles, serpents, lézards, crocodiles. Trois familles sont concernées : Culicidae (moustiques des genres *Culex*, *Aedes*, *Anophèles*) ; Phlébotomidae (phlébotomes) ; Muscidae (mouche tsé-tsé).

- Les Acariens

- Tiques des familles Ixodidés et Argasidés, vecteurs d'*Hepatozoon* parasites de mammifères, d'oiseaux et de lézards.
- Acariens de divers genres (autres que tiques), vecteurs d'*Hepatozoon* parasites de mammifères et de lézards.

Des sangsues (embranchement des Annelides ; classe des Hinudinées) ont été suspectées d'être vecteurs d'*Hepatozoon* parasites de serpents.

Malgré la diversité des hôtes, Vertébrés ou Invertébrés, le schéma du cycle décrit par Miller, 1908 pour *Hepatozoon muris* a été retrouvé chez toutes les espèces d'*Hepatozoon* pour lesquelles le cycle biologique a été élucidé .

Les caractéristiques de ce cycle sont les suivantes : chez l'hôte définitif (arthropode hématophage) se produisent la gamétogénèse, la fécondation et la sporogonie avec production d'ookystes volumineux contenant plusieurs sporocystes ; schizogonie et gamogonie se déroulent dans les organes internes et les cellules sanguines d'un hôte intermédiaire vertébré, l'infection de ce dernier se faisant par l'ingestion de l'hôte définitif ou vecteur [94]. Néanmoins, quelques différences existent selon l'espèce d'*Hepatozoon*. Ainsi, la sporogonie peut se dérouler soit dans la paroi intestinale soit dans l'hémocoèle de l'hôte invertébré. Chez l'hôte vertébré, la schizogonie peut se produire dans divers organes. Le gamonte peut parasiter soit les érythrocytes soit, comme c'est commun chez les *Hepatozoon* infectant les mammifères et les oiseaux, les leucocytes. Enfin, toujours selon l'espèce de l'*Hepatozoon*, on peut observer ou non la formation de kystes dizoïques latents chez l'hôte vertébré. Par contre, la transmission de l'*Hepatozoon* de l'hôte invertébré à l'hôte vertébré se fait toujours et exclusivement par l'ingestion de l'hôte vecteur [147].

CHAPITRE II : CYCLES BIOLOGIQUES D'*Hepatozoon canis* ET D'*Hepatozoon americanum*

Les cycles d'*H. canis* et d'*H. americanum* présentent les caractéristiques communes suivantes. Dans les deux cas, il s'agit :

- d'un cycle hétéroxène, faisant intervenir un hôte définitif invertébré hématophage (arthropode piqueur, vecteur de la maladie : *Rhipicephalus sanguineus* pour *H. canis* ; *Amblyomma maculatum* pour *H. americanum*) et un hôte intermédiaire vertébré, le plus souvent le chien mais aussi très probablement d'autres Canidés et Félidés.
- D'un cycle de type coccidien, associant à la fois une reproduction asexuée de type schizogonie (ou mérogonie) et une reproduction sexuée avec gamétogonie et sporogonie.

C'est chez le chien que se produisent schizogonie et gamogonie tandis que chez la tique se déroulent la gamétogonie, la fécondation des gamètes et la sporogonie.

La transmission du parasite de l'un à l'autre des 2 hôtes protagonistes de ce cycle se fait :

- d'une part lors du repas sanguin de la tique sur un chien parasité
- d'autre part par l'ingestion de la tique contaminée par un chien lorsque celui-ci se mord ou se toilette.

A. CYCLE D'*Hepatozoon canis* CHEZ LE CHIEN ET CHEZ LA TIQUE

Rhipicephalus sanguineus (Figure 1)

Le cycle d'*H. canis* a été décrit depuis longtemps chez le chien (*Canis familiaris*) et chez la tique *Rhipicephalus sanguineus* [42-43-164]. Il est donc relativement bien connu même si certains points restent encore à élucider.

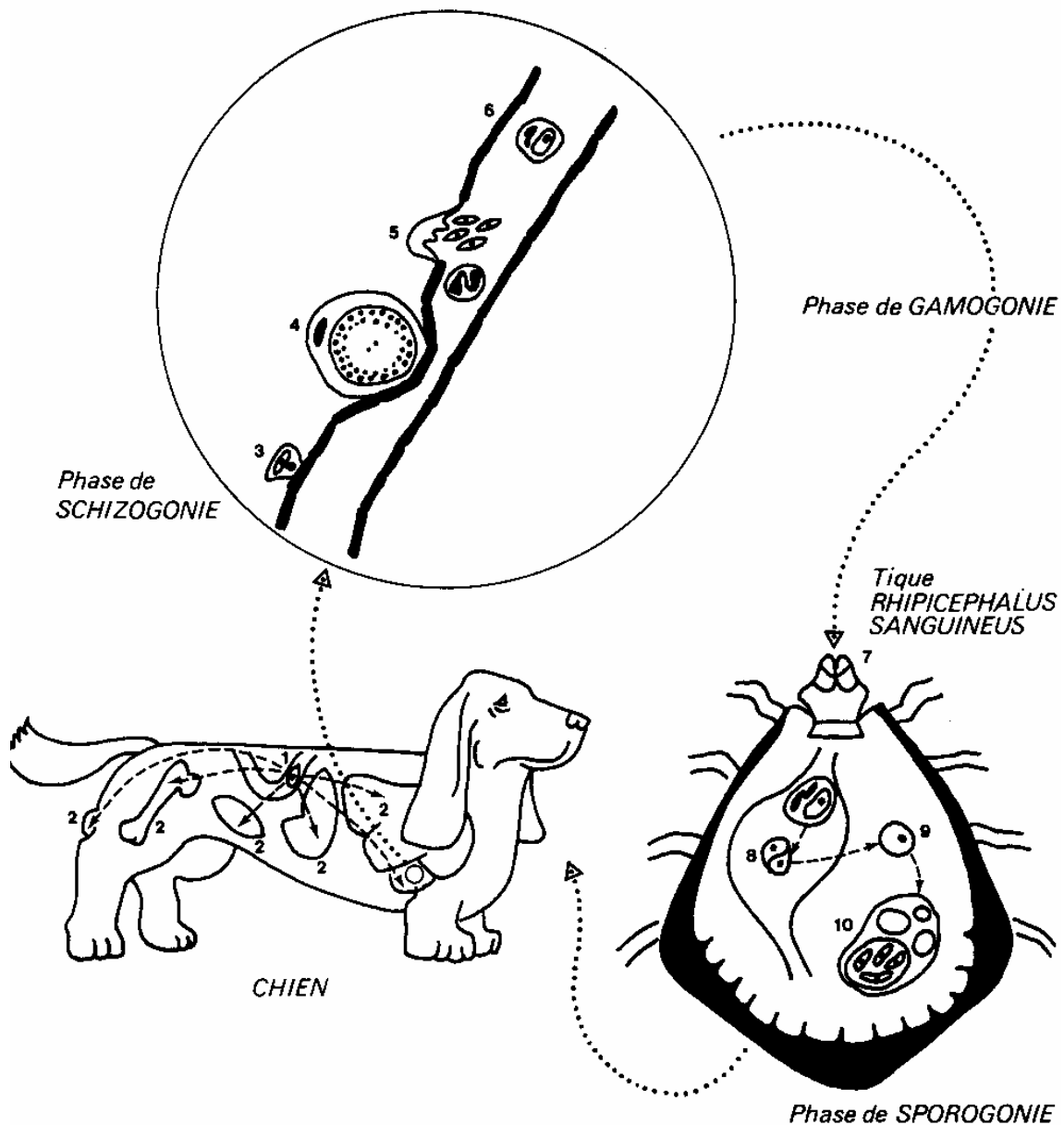


Figure 1: Cycle d'*Hepatozoon canis* [d'après 26].

Le cycle commence lorsque le chien ingère une tique contaminée;

1. Des sporozoïtes sont libérés dans l'intestin du chien.
2. Ils traversent la barrière intestinales et sont disséminés par le sang vers les ganglions, le foie, la rate, etc.
3. Dans chacun de ces organes, les sporozoïtes pénètrent dans une cellule-hôte; (cellule de la paroi d'un vaisseau sanguin, sur ce schéma).
4. Le sporozoïte se transforme en schizonte.
5. Rupture du schizonte et libération des schizozoïtes.
6. Pénétration d'un schizozoïte dans un leucocyte, et transformation en gamétocyte.
7. Absorption des leucocytes parasités, lors d'un repas sanguin de la tique.
8. Deux gamétocytes s'unissent pour former un zygote mobile.
9. Le zygote traverse la paroi intestinale de la tique, et passe dans l'hémocoel.
10. Le zygote se développe pour donner un ookyste mûr qui contient de 30 à 50 sporokystes, chacun renfermant environ 16 sporozoïtes.

Si *Rhipicephalus sanguineus* est le vecteur essentiel (voire exclusif en Europe et notamment en France) de l'hépatozoonose canine, d'autres tiques ont été suspectées de pouvoir servir d'hôte définitif à *H. canis*. Nous en reparlerons plus en détail dans le chapitre épidémiologique consacré aux vecteurs de cette maladie. De même, certains carnivores sauvages pourraient servir d'hôte intermédiaire à *H. canis*.

1. CHEZ LA TIQUE : FECONDATION ET SPOROGONIE

La tique s'infecte lors d'un repas sanguin, nymphal mais aussi semble-t-il larvaire, même si les premiers travaux de Christophers en 1912 n'avaient pu mettre en évidence d'infestation par *H. Canis* chez la larve de *R. sanguineus*, après un repas sur un chien atteint d'hépatozoonose [101]. Au cours de ce repas, la tique absorbe des leucocytes parasités par des gamontes (ou gamétocytes) d'*H. canis*.

1.a. Phases de gamétogonie et de fécondation

Cette première étape se déroule dans la lumière intestinale de la tique. Elle est caractérisée par la fusion de 2 gamétocytes, ayant quitté le leucocyte dans lequel ils se trouvaient [61-153] :

- l'un, appelé microgamétocyte, producteur de gamètes mâles (ou microgamètes)
- l'autre appelé macrogamétocyte, producteur du gamète femelle (ou macrogamète).

Ces 2 types de gamétocytes ne présentent aucun dimorphisme sexuel et ne doivent leurs appellations qu'à la nature des gamètes formés et non à leurs dimensions propres [61]. La formation des gamètes s'effectue dans le tractus digestif de la tique. La microgamétogénèse aboutit à la formation de 2 microgamètes non flagellés. La macrogamétogénèse ne fournit qu'un seul macrogamète qui reste inclus au sein du macrogamonte. Micro- et macrogamètes sont de tailles légèrement différentes : on parle d'anisogamie [37-94-153].

La fécondation des gamètes est de type sygygique : rapprochement des gamontes eux-mêmes et non des gamètes libres. Il en résulte un zygote mobile (ou œuf) qui va traverser la paroi intestinale de la tique et passer dans l'hémocoèle [37-153].

1.b. Phase de sporogonie (ou sporulation de l'oeuf) (Figure 2)

Elle survient dans l'hémocoèle. Le zygote subit de multiples divisions de son noyau et se développe pour donner un ookyste mûr qui contient de 30 à 70 sporocystes,

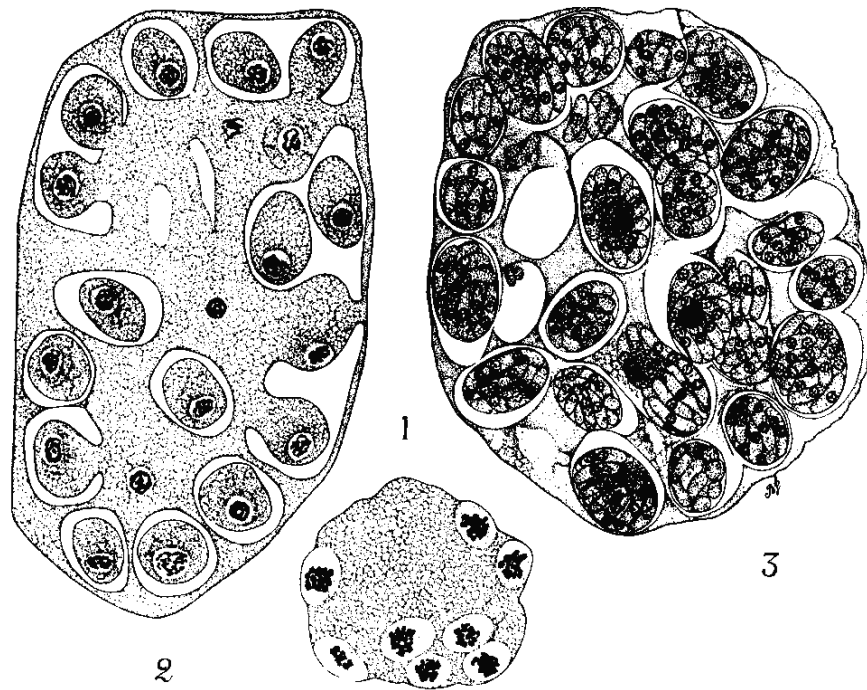


Figure2 : *Hepatozoon canis*: Etapes du développement chez la tique, *Rhipicephalus sanguineus* (x600). [d'après 166]

1. Zygote ayant augmenté de taille et subissant de nombreuses divisions nucléaires.
2. Section d'un ookyste en développement dans lequel la formation des sporocystes est en cours.
3. Section d'un ookyste mûr dans lequel les sporocystes, contenant chacun environ 16 sporozoïtes sont formés.

chacun renfermant environ 16 sporozoïtes [166].

Cet ookyste peut être mis en évidence sur des frottis d'hémolymph de *R. sanguineus* [166].

Le délai d'apparition des ookystes dans l'hémocoel n'est pas connu.

2. CHEZ LE CHIEN : SCHIZOGONIE ET GAMOGONIE

Le chien se contamine par ingestion d'ookystes présents dans l'hémocoel de la tique.

2.a. Phase de schizogonie (ou mérogonie) (Figure 3)

Après ingestion de la tique par le chien, les sporozoïtes sont libérés dans l'intestin. Ils traversent alors la paroi intestinale et vont se localiser via le sang dans différents organes dont la **rate**, le **foie**, les **nœuds lymphatiques**, la **moelle osseuse**, les **poumons** [11-75-83-106] et plus rarement les **reins**, le **pancréas**, la **plèvre** [17] ou encore le **cerveau** et les **méninges** [106].

La localisation du parasite *H. canis* aux muscles squelettiques n'a jamais pu être observée [17-27-75] à la différence d'*H. americanum* pour lequel la localisation musculaire est prédominante. Une seule observation d'*H. canis* au niveau du muscle cardiaque a été rapportée [106].

L'évolution du parasite est la même dans tous les tissus.

Dans chacun de ces organes, les sporozoïtes pénètrent dans une cellule-hôte (souvent une cellule du système des phagocytes mononucléés ou une cellule endothéliale) [74-75-106] et entament le processus de schizogonie : divisions successives du noyau, sans découpage correspondant du cytoplasme puis division du cytoplasme en autant de portions qu'il y a de noyaux-fils.

Le sporozoïte qui va entreprendre la schizogonie est un schizonte – ou méronte – jeune ; l'élément syncitial plurinucléé porte le nom de schizonte – ou méronte – mûr. Les cellules filles sont appelées schizozoïtes ou mérozoïtes.

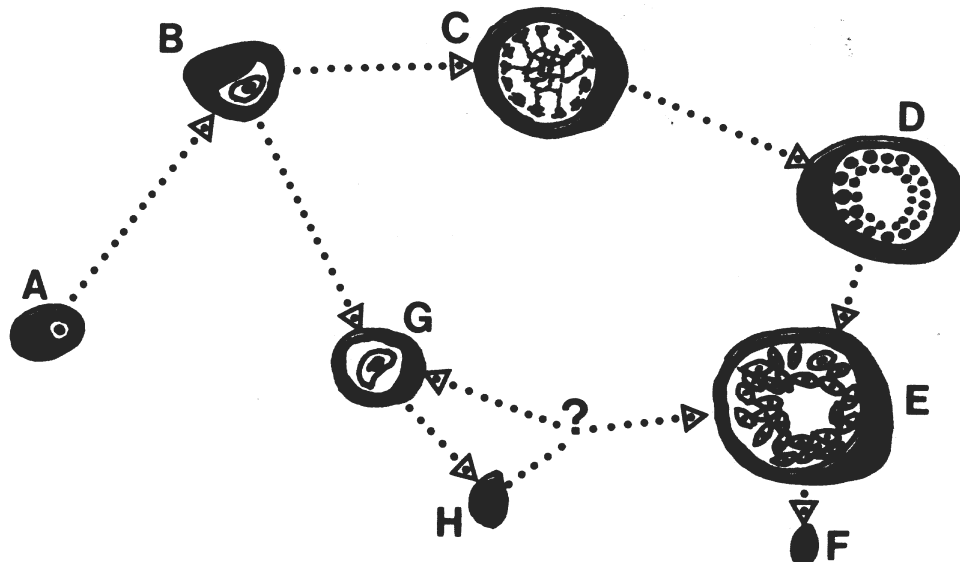


Figure 3 : Schizogonie d'*Hepatozoon canis* [d'après 26]

- A Le sporozoïde (trophozoïte) pénètre dans une cellule-hôte du chien.
- B. Sporozoïte de taille supérieure, dans une vacuole cytoplasmique de la cellule-hôte ; le cytoplasme du sporozoïte acquiert un aspect bulleux, écumeux.
- C et D Des masses de chromatine se développent en périphérie du cytoplasme du parasite ; elles se transforment en noyaux de plus en plus nets au fur et à mesure de la maturation.
- E. Microschizonte contenant plusieurs dizaines de microschizontes.
- F. Microschizonte : après rupture du schizonte, il pénètre dans un leucocyte et s'y transforme en gamétocyte.
- G. Macroschizonte contenant de 1 à 4 macroschizontes.
- H. Macroschizonte : on suppose qu'il redonne des schizontes.

Cette évolution a été remarquablement illustrée par Mac Cully et al. [106] chez le chien et les carnivores sauvages.

Le sporozoïte se localise d'abord dans le cytoplasme de la cellule-hôte puis dans une vacuole cytoplasmique. Le cytoplasme du parasite devient écumeux ; sa taille augmente ; au fur et à mesure de son développement, des masses de chromatine apparaissent et se disposent en périphérie du schizonte ainsi formé. Elles deviennent les noyaux de structures allongées : les schizozoïtes ou mérozoïtes.

Parmi les schizontes mûrs, on distingue :

- des macroschizontes, de petite taille (14 à 20 µm), mais ainsi désignés car renfermant des macroschizozoïtes en petit nombre : 1 à 4.
- des microschizontes, plus gros (de 40 à 100 µm selon les auteurs) contenant plusieurs dizaines des microschizozoïtes [75-106-166].

Après rupture du schizonte, les microschizozoïtes vont pénétrer dans un leucocyte et s'y transformer en gamétocyte, tandis que l'on suppose que les macroschizozoïtes vont redonner un schizonte et peuvent subir ainsi plusieurs cycles schizogoniques [46-106-166].

Les schizontes sont souvent décrits à l'intérieur de cellules faisant saillie dans des vaisseaux sanguins : cellule endothéliale ou cellule de la paroi du vaisseau. Lorsque la paroi du schizonte mûr cède, les schizozoïtes sont alors directement libérés dans la circulation sanguine.

2. b. Phase de gamogonie

Le schizozoïte pénètre dans un granulocyte neutrophile ou dans un monocyte et s'y transforme en gamétocyte (= gamonte).

L'infection du leucocyte pourrait se faire par pénétration directe ou par phagocytose [76-162].

Certains auteurs [11-114] ont émis l'hypothèse que l'infestation des leucocytes puisse se produire dans la moelle osseuse au stade myéloblastique. Murata et al. [114], en particulier, s'appuient sur l'examen des leucocytes infectés en microscopie électronique et sur l'observation du fait que ces derniers possèdent un noyau mature mais des organelles immatures, ce qui laisserait à penser que le mérozoïte d'*H. canis* envahirait les cellules au

stade myéloblastique puis bloquerait le développement normal des organelles de la cellule leucocytaire infectée.

On dispose de peu de données concernant la durée des phases de schizogonie et de gamogonie.

Sur des chiens expérimentalement infectés, les premiers schizontes sont détectés entre 13 et 35 jours post-inoculation [13] et la mise en évidence de gamontes sur frottis sanguins démarre, selon les individus, entre 28 et 78 jours post-inoculation [13-16].

Ces variations individuelles pourraient être liées à plusieurs facteurs tels la charge infectieuse de l'inoculum administré aux chiens ou la réponse immunitaire de chacun d'entre eux face à l'infection.

B. CYCLE D'*Hepatozoon americanum* CHEZ LE CHIEN ET CHEZ LA TIQUE *Amblyomma maculatum* (Figure 4)

Jusqu'en 1997, *H. americanum* a été considéré comme une souche particulièrement virulente d'*H. canis*, dite « souche texane » [21].

Son cycle a donc longtemps été calqué sur celui du parasite que nous connaissons en France et hors U.S.A., bien que l'observation microscopique des stades parasitaires, notamment schizogoniques, d'*H. americanum* et leur localisation tissulaire aient montré des divergences avec les observations réalisées pour *H. canis* [49-56-97-159].

C'est récemment que le cycle d'*H. americanum* a été partiellement élucidé, grâce aux observations effectuées en microscopie optique et électronique, notamment sur des chiens infectés expérimentalement [123-124-126] et grâce à l'identification du vecteur arthropode hôte définitif qui s'avère être *Amblyomma maculatum* [64-103-104] et non *Rhipicephalus sanguineus* comme on l'avait tout d'abord postulé [21-120-125].

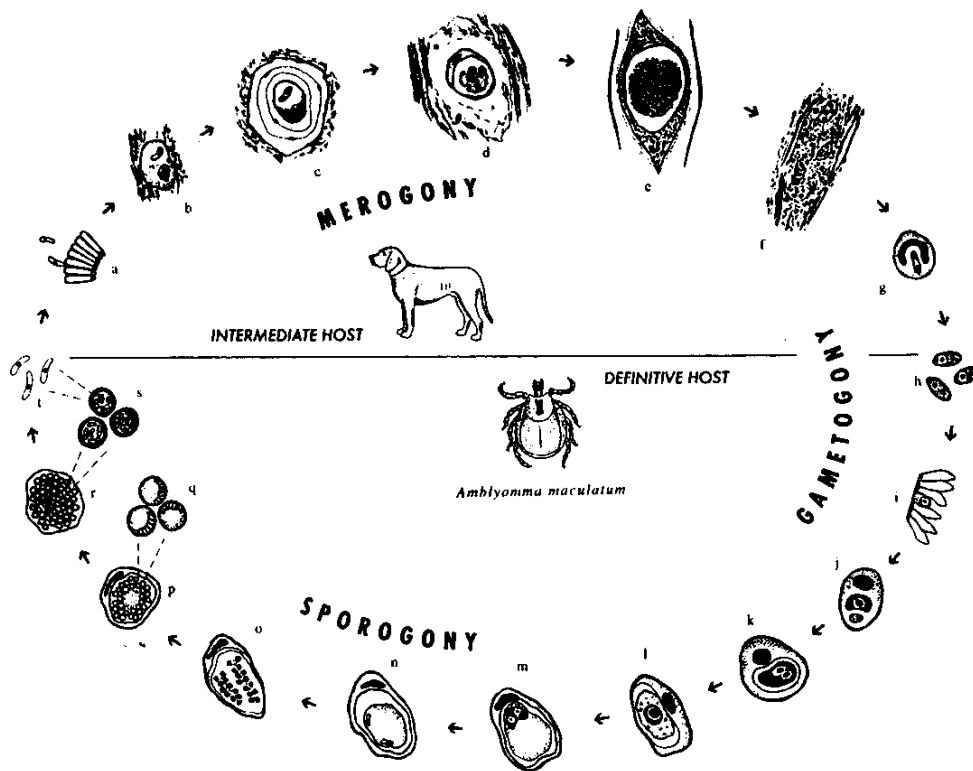


Figure 4 : Cycle d'*Hepatozoon americanum* [d'après 65]

- Le cycle commence lorsque le chien ingère une tique contaminée ;
- Des sporozoïtes sont libérés dans l'intestin du chien, passent la barrière intestinale et sont disséminés à différents tissus de l'organisme (essentiellement muscles squelettiques)
 - apparition de stades schizogoniques à l'intérieur d'une cellule canine non identifiée, au niveau des muscles squelettiques ;
 - parasite à l'intérieur de la cellule hôte, entourée d'un matériel mucopolysaccharidique multilamellaire : apparition du kyste en « peau d'oignon » ;
 - schizonte à l'intérieur de la cellule hôte non identifiée : formation des schizozoïtes ;
 - schizontes contenant des schizozoïtes
 - pyogranulome constitué de macrophages et de granulocytes neutrophiles ayant phagocyté des schizozoïtes ;
 - leucocyte contenant un gamonte ;
 - gamonte dans la lumière intestinale de la tique ;
 - gamonte entrant dans une cellule intestinale ;
 - 2 gamètes à l'intérieur d'une cellule intestinale non identifiée ;
 - fécondation ;
 - zygote ;
 - zygote avec un noyau fusiforme ;
 - méiose ;
 - ookyste avec sporocystes en formation ;
 - sporocystes immatures ;
 - formation des sporozoïtes ;
 - ookyste mature ;
 - détail : sporocystes contenant des sporozoïtes ;
 - sporozoïtes relâchés des sporocystes.

A la différence de *Rhipicephalus sanguineus*, qui est une tique monotrope ayant pour hôte hautement préférentiel le chien, *Amblyomma maculatum* est polytrope : sa larve et sa nymphe vivent essentiellement sur des oiseaux terrestres et des petits rongeurs (souris, rat des champs, campagnol, musaraigne) ou lagomorphes tandis que l'adulte a pour hôte préférentiel de gros herbivores mais peut parasiter certains Canidés (coyote, chien domestique).

H. americanum pourrait donc être impliqué dans un cycle endémique, faisant intervenir certains rongeurs ou oiseaux, en tant qu'hôtes intermédiaires, et la tique *Amblyomma maculatum* en tant qu'hôte définitif.

Le chien, et d'autres Canidés sauvages tel le coyote (chez qui l'infestation par *H. americanum* a été démontrée), seraient alors des hôtes intermédiaires accidentellement impliqués dans un cycle où d'autres Vertébrés (Rongeurs, Oiseaux), hôtes intermédiaires principaux, joueraient le rôle de réservoir sauvage.

La contamination du chien pourrait se faire par ingestion de tiques lors de la toilette ou peut-être aussi par prédation de petits animaux porteurs de tiques infectées [64].

1. CHEZ LA TIQUE : FECONDATION ET SPOROGENIE

L'infestation d'*Amblyomma maculatum* se produit lors d'un repas sanguin larvaire [64] ou nymphal [104] sur un chien porteur d'*H. americanum*. La tique est donc à son tour infectante pour un chien au stade nymphal ou adulte.

Le développement d'*H. americanum* chez *A. maculatum* a récemment été étudié en détail [103].

La particularité de ce cycle par rapport à *H. canis* est que fécondation et sporogonie se produisent entièrement à l'intérieur des cellules intestinales de la tique. C'est d'ailleurs le premier rapport de ce genre pour un *Hepatozoon sp.*. Diverses études du développement sporogonique d'autres *Hepatozoon* ont montré que la fusion des gamètes se produit dans la lumière intestinale, dans l'hémocoele ou encore à l'intérieur d'une cellule de la tique tandis que le développement du zygote intervient dans l'hémocoele de l'arthropode [147-149].

1. a. Gamétogénèse et fécondation [103]

La gamétogénèse reste non élucidée. Elle se produit probablement dans la lumière intestinale. Micro et macrogamètes ont été observées à l'intérieur des cellules intestinales, contenues dans une vacuole parasitophore, entre 4 et 6 jours post-inoculation. La fusion de deux gamètes,

mise en évidence à 7 j. post-inoculation, aboutit à la formation d'un zygote apparaissant tout d'abord comme une structure arrondie avec un gros noyau diffus, contenant un nucléole sombre.

1. b. Sporogonie [103]

Elle se produit à l'intérieur d'une cellule intestinale.

Le zygote augmente de taille, passant de 20µm, 6 jours post-inoculation, à 245µm, 33 j. P.I.. Parallèlement, de nombreuses granules sombres apparaissent dans le cytoplasme entre 13 et 17 j. P.I. (elles pourraient avoir un rôle dans la formation de la paroi des sporocystes) puis le cytoplasme du parasite devient très écumeux. Le noyau prend une forme en fuseau et se positionne en périphérie. La première division nucléaire survient à 20 j. P.I.

La formation des sporocystes paraît identique à celle décrite pour *H. canis* par Wenyon [164]. Elle débute à 23 j. P.I. Après plusieurs divisions nucléaires, les noyaux-fils se disposent en périphérie de l'ookyste en développement. Les sporocystes sont ensuite individualisés selon un processus de bourgeonnement qui laisse un corps résiduel. Les premiers sporocystes, d'abord de forme irrégulière, sont observés à 27 j. P.I. puis deviennent sphériques à 30 j. P.I.

La formation des sporozoïtes débute à 33 j. P.I. Après division du noyau du sporocyste, les noyaux-fils se disposent en périphérie du sporocyste mais préférentiellement à un pôle, différant en cela des observations faites pour *H. canis* [164] et pour *H. perniciosum* [109] pour lesquels la répartition des sporozoïtes en formation est bipolaire.

Les sporozoïtes sont ensuite formés par endopolygénie, laissant un corps résiduel similaire à celui observé pour *H. canis* [43-164]. Les premiers sporozoïtes complètement formés sont observés dans les sporocystes à 42 j. P.I..

La localisation des ookystes mûrs d'*H. americanum* chez la tique est encore mal définie.

Mathew et al. ont observé ces ookystes libres dans l'hémocoele de la tique, suggérant qu'une fois pleinement mûres, les ookystes étaient sans doute libérés de la cellule intestinale dans laquelle leur formation s'était produite et passaient dans l'hémocoele [103].

Ewing et al. ont par contre décrit les ookystes mûrs comme étant attachés à la paroi intestinale, côté hémocoele, à l'intérieur de grandes vacuoles parasitophores [64].

La technique de dissection de la tique (coupe longitudinale versus transversale) pourrait être une cause artéfactuelle entraînant une libération artificielle des ookystes dans hémocoèle.

Quand l'infestation de la tique se produit au stade nymphal, les premiers ookystes mûrs sont observés à 42 j. post-inoculation chez la tique adulte nouvellement issue de la mue [103]. L'apparition de tels ookystes semble nécessiter un peu moins de temps quand l'infestation se produit au stade larvaire puisque les premiers ookystes mûrs ont pu être mis en évidence à partir de 33 à 36 j. après inoculation, chez la nymphe nouvellement issue de la mue [64].

Les ookystes mûres observés chez la tique sont toujours intacts. Aucune observation de sporocystes ou sporozoïtes libres dans l'hémocoèle n'a été faite [64-103].

2. CHEZ LE CHIEN

Après ingestion des ookystes contenus à l'intérieur de la tique, les sporozoïtes sont libérés dans l'intestin. Les sporozoïtes d'*H. americanum* sont facilement libérés quand on soumet les sporocystes à l'action de la bile ou de suc digestif d'un chien. L'action séparée de pepsine, trypsine, acide chlorhydrique ou suc pancréatique est par contre sans effet.

On pense que le parasite pénétrerait alors dans une cellule-hôte de nature indéterminée, probablement au niveau de la muqueuse intestinale, avant d'être disséminé, par voie sanguine ou lymphatique et à l'intérieur de cette cellule, à divers tissus de l'organisme [123-124].

Toutefois une dissémination sous forme libre avec pénétration ultérieure dans une cellule-hôte, c'est-à-dire au niveau tissulaire, ne peut être exclue avec certitude, bien que peu probable. En effet, l'absence de réaction inflammatoire associée aux lésions tissulaires primitives est plutôt en faveur de l'hypothèse d'une arrivée du parasite à l'intérieur d'une cellule du chien [123-124].

Les tissus parasités sont :

- très essentiellement, les **muscles striés squelettiques** et le **myocarde**
- mais aussi, bien qu'occasionnellement, la rate, les nœuds lymphatiques, le foie, le pancréas, les poumons, les glandes salivaires, le tissu adipeux mésentérique, rétro-péritonéal et péritonéal, la paroi stomacale et intestinale [21-123-125].

Comme nous l'avons déjà évoqué plus haut, la localisation préférentielle d'*H. americanum* chez le chien est donc musculaire (muscles striés, cœur) alors qu'*H. canis* n'est jamais retrouvé à cette localisation mais essentiellement au niveau de divers organes parenchymateux.

L'évolution du parasite semble être identique dans tous les tissus même si c'est évidemment en localisation musculaire que cette évolution a fait l'objet du plus grand nombre de descriptions.

La présence du parasite induit la transformation de la cellule-hôte - vacuolisation du cytoplasme ; apparition de corps de Golgi en grand nombre accompagnés de vésicules sécrétoires – et la sécrétion par celle-ci d'un matériel mucopolysaccharidique s'agencant de façon concentrique autour de la cellule et conduisant à la formation d'un kyste dit « en peau d'oignon » (terme lié à l'aspect multilamellaire du matériel mucopolysaccharidique) caractéristique et spécifique de l'hépatozoonose nord-américaine [48-56-123-124]. Nous décrirons ce kyste plus en détail dans le chapitre consacré à la morphologie du parasite.

Parallèlement au développement du kyste, le parasite, situé semble-t-il dans une vacuole parasitophore à l'intérieur de la cellule-hôte transformée, subit un processus de schizogonie identique à celui décrit pour *H. canis* : apparition de masses de chromatine disposées en périphérie du schizonte puis individualisation des schizozoïtes par un phénomène d'invagination (infolding) aboutissant à la formation d'un schizonte mûr [123].

A ce stade, la paroi mucopolysaccharidique devient très fine et la rupture du kyste permet alors la libération de nombreux schizozoïtes, induisant une réaction inflammatoire relativement sévère avec, dans un premier temps, afflux de granulocytes neutrophiles relayés dans un second temps par des macrophages qui deviennent prédominants en nombre et forment un véritable granulome inflammatoire avec néovascularisation intense [56-123-124].

La disproportion entre le nombre de kystes et le nombre de granulomes observés dans un muscle donné (ratio supérieur à 10 : 1) semble toutefois indiquer que, dans un grand nombre de cas, le phénomène de schizogonie échoue entraînant la dégénérescence du kyste [123].

A l'intérieur du granulome inflammatoire, les schizozoïtes sont phagocytés par les macrophages et les granulocytes neutrophiles. Cette phagocytose provoque soit la destruction

du parasite, soit permet son passage dans la circulation sanguine : il est en effet fréquent d'observer en microscopie des granulocytes neutrophiles ou des macrophages contenant un schizozoïte et en train de traverser la paroi d'un vaisseau de granulome ou bien situés directement dans la lumière vasculaire [123].

Une fois dans la circulation sanguine, les schizozoïtes subissent 2 évolutions possibles [123] :

- soit ils se transforment en gamétocytes
- soit ils sont redistribués à d'autres muscles ou organes où ils reprendront un cycle asexué

Ainsi, la persistance de l'infection a été démontrée chez un chien maintenu pendant 9 mois dans des conditions « tiques-free ». Des biopsies musculaires obtenues tous les 3 mois ont montré un ratio kyste/granulome variable à chaque prélèvement (3,5 : 1 ; 6 : 1 ; 3 : 1 ; 9 : 1) indiquant que des schizogonies répétées ont lieu, perpétuant l'infection [123].

Des observations de différents stades parasitaires d'*H. americanum* par méthode immunohistochimique (utilisant un Ac polyclonal produit par un lapin en réponse à l'injection de sporozoïtes d'*H. americanum*) se sont révélées tout à fait similaires aux observations réalisées par méthodes histologiques conventionnelles (coloration hématoxylin/éosine) [126].

La durée de la phase de schizogonie et de la phase de gamogonie est sans doute plus courte que celle initialement rapportée par Nordgren et al.. Ces derniers, après infection expérimentale chez des chiots, avaient observé des schizontes dans les muscles après 8 semaines et les premiers gamétocytes dans les leucocytes 3 mois après inoculation [120].

Pancier et al. ont décrit l'observation des premières lésions musculaires 3 semaines après contamination expérimentale de chiens (adultes et jeunes) et la présence des gamontes dans le sang circulant 28 à 32 j. post-inoculation [124].

Ces observations sont proches de celles réalisées par Mathew et al. qui ont rapporté les premières lésions kystiques 5 semaines post-contamination et l'observation des gamontes peu de temps après [104].

Par ailleurs, Pancier et al. ont décrit avec précision l'évolution dans le temps de l'enkystement du parasite contenu dans la cellule-hôte.

A 3 semaines post-inoculation, les toutes premières lésions musculaires observables consistent en une cellule-hôte modifiée contenant fréquemment un stade schizogonique d'*H. americanum*. Aucune trace d'enkystement mucopolysaccharidique n'est encore visible.

A 4,5 semaines P.I., le matériel mucopolysaccharidique entourant le kyste commence à être visualisé et devient de plus en plus abondant au fil des semaines (la taille du kyste augmentant en parallèle : de 75 X 75µm à 4,5 semaines à 100 X 180µm à 10 sem.) pour atteindre un degré de développement maximum vers 26 sem. P.I. (180 X 290µm).

Néanmoins, l'augmentation de la quantité de matériel mucopolysaccharidique et de la taille du kyste est en rapport avec la durée de l'infection plutôt qu'avec le stade développemental du parasite associé, puisque l'achèvement du cycle asexué (caractérisé par la présence de mérozoïtes mûrs dans les lésions tissulaires, par l'observation de schizontes en train de franchir la paroi vasculaire et par la présence de gamètes dans le sang circulant) se produit en 28 à 32 j. [124].

CHAPITRE III : MORPHOLOGIE DES STADES EVOLUTIFS

D'Hepatozoon canis ET *Hepatozoon americanum*

A. GAMETOCYTE

Le gamétocyte est la forme la mieux connue du parasite chez le chien : il s'agit d'un élément allongé (8 à 12µm sur 3 à 6µm) en situation intracytoplasmique dans les granulocytes neutrophiles et les monocytes. Le noyau de la cellule-hôte est généralement repoussé en périphérie par le parasite.

Les gamétocytes d'*H. canis* et d'*H. americanum* présentent une morphologie très similaire, que ce soit en microscopie optique ou en microscopie électronique, et nous les étudierons en parallèle en soulignant les quelques points qui les différencient.

Les mensurations du gamonte d'*H. americanum* sont notamment légèrement inférieures à celles d'*H. canis* et sa présence dans le sang circulant beaucoup plus inconstante, le taux de leucocytes parasités excédant rarement 0.1% alors qu'il peut atteindre 90% pour *H. canis*.

1. NATURE DE LA CELLULE-HÔTE

Si on a longtemps pensé, au vu de leur morphologie et notamment de leur noyau segmenté, que les seuls leucocytes parasités étaient les neutrophiles [27-49-56], de nombreux auteurs s'accordent actuellement pour dire que les gamétocytes peuvent être observés dans les granulocytes neutrophiles mais aussi dans les monocytes [21-40-46-95-114-159].

La compression du noyau, de la cellule-hôte par le parasite expliquerait l'aspect lobulé du noyau généralement constaté, rendant l'identification du type de leucocyte délicate et expliquant la confusion possible entre neutrophiles et monocytes.

Certains auteurs [75-99] ont suggéré que les leucocytes parasités par les gamontes puissent être uniquement les monocytes.

Les travaux menés par Makimura et Kinjo, utilisant deux colorations cytochimiques, respectivement spécifiques des neutrophiles et des monocytes (la coloration à la naphtol-

ASD-chloro-acéto-acétate ou CAE et la coloration à la α -naphthol-acétate-estérase ou ANAE) ont en effet permis d'identifier 100% des leucocytes parasités comme étant des monocytes [99].

Hervas et al. fondent leur hypothèse sur l'ultrastructure en microscope électronique des leucocytes parasités et sur le fait en particulier que ces derniers soient relativement pauvres en lysosomes [75].

D'autres auteurs ont également souligné le fait que les neutrophiles-like infectés présentent des dimensions supérieures (15,9 x 14,1 μ m en moyenne) aux dimensions usuelles des granulocytes neutrophiles (10,3 x 9,1 μ m en moyenne) et correspondant mieux aux mensurations monocytaires [119].

2. MORPHOLOGIE EN MICROSCOPIE OPTIQUE (Figure 5)

Le gamétocyte d'*H. canis* et d'*H. americanum* apparaît comme un élément capsulaire, rectangulaire à angles arrondis, mesurant schématiquement 8 à 12 μ m sur 3 à 6 μ m (nous reviendrons plus précisément sur les mensurations un peu plus loin) et présentant un noyau en position excentrique [26-40-119-160].

La plupart des colorations classiques permettent la mise en évidence de façon plus ou moins distincte, du parasite : la capsule apparaît claire à légèrement bleutée avec un noyau compact, foncé, légèrement excentré [26-119-160].

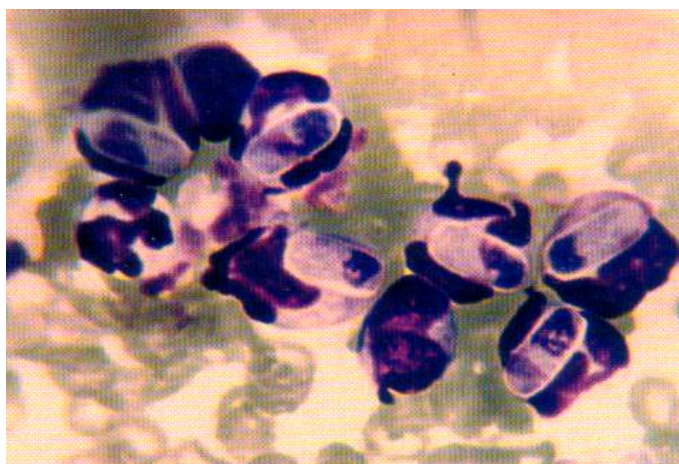


Figure 5 :

Gamétocytes d'*Hepatozoon canis* à l'intérieur
de granulocytes neutrophiles
(sang, Diff-Quick, X1000)
Source Beaufils et al. [29]

Le plus souvent, les extrémités du gamétocyte d'*H. canis* touchent la membrane du leucocyte-hôte en en déformant le contour, ce qui n'est pas observé pour *H. americanum* du fait de la plus petite taille de son gamonte [160].

Il arrive fréquemment que le parasite quitte la cellule parasitée après le prélèvement, laissant une capsule vide plus difficile à mettre en évidence [26-115-119].

3. MORPHOLOGIE EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

En microscopie électronique, le gamétocyte apparaît comme une cellule de forme variable contenue dans une vacuole parasitophore [56-74-75-115-160].

Un matériel fibrillaire peu dense et relativement épais a parfois été observé pour *H. canis*, dans le cytoplasme de la cellule-hôte, entourant la vacuole parasitophore [115], ce qui semble être spécifique à *H. canis* et non à *H. americanum* [160].

La forme la plus caractéristique du gamétocyte semble être celle rapportée par Droleskey et al. [56] et par Hervas et al. [74]. Il s'agit de 2 branches de cytoplasme connectées entre elles par un tube rempli lui aussi de cytoplasme. (Figure 6).

Chez *H. americanum*, l'une des 2 branches, très amincie sur une partie de sa longueur et s'étendant plus loin que l'autre, dessine une sorte d'appendice évoquant une queue (« taillike appendage ») [56-160]. Cette particularité n'a pas été décrite pour *H. canis*.

D'autres formes ont également été observées : formes en ailes de papillon, en X [75] ou encore formes moins définissables [75-115] (Figure 7).

La densité électronique de ces différentes formes est variable : les formes à deux branches et les formes en ailes de papillon sont généralement rapportées comme étant extrêmement denses aux électrons tandis que les formes en X et les formes indéterminées apparaissent relativement moins denses. Ce dimorphisme pourrait selon certains correspondre à différents stades dans le processus de maturation des schizozoïtes en gamontes matures. Les formes les moins denses représenteraient un stade évolutif précoce, ressemblant en termes de densité et de contenu cytoplasmique, à des schizozoïtes [75].

Les gamontes matures correspondraient quant à eux aux formes très électroniquement denses.

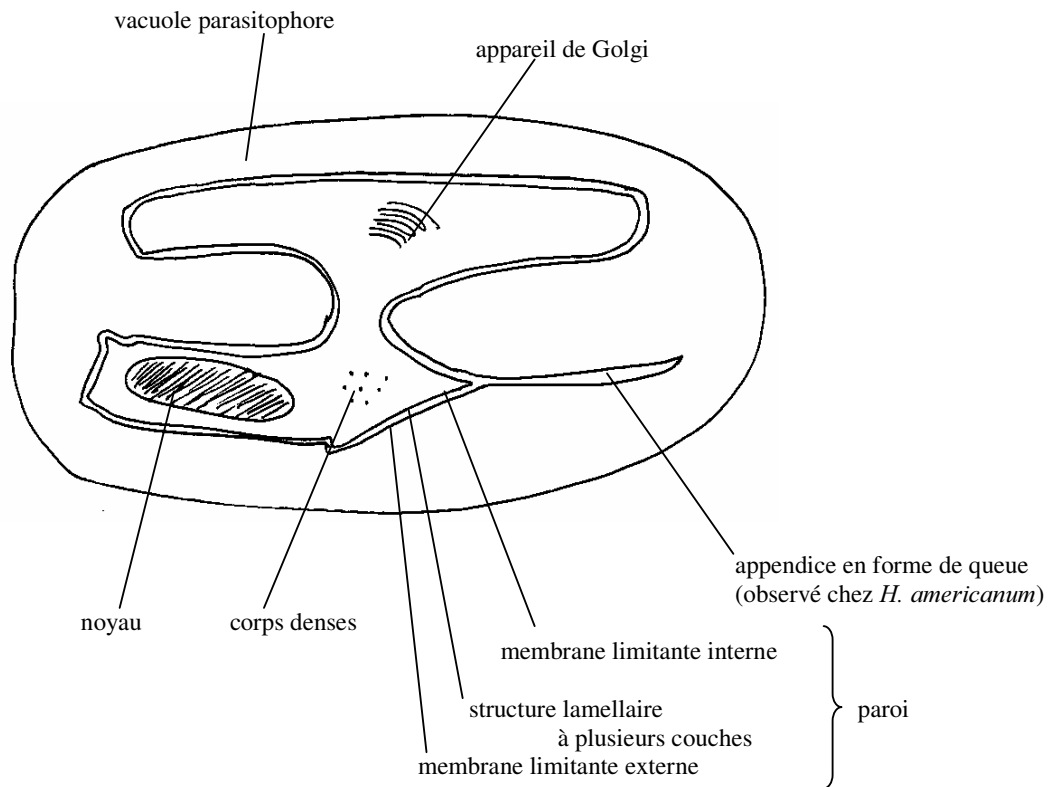


Figure 6 : Gamétocyte d'*H. canis* ou d'*H. americanum* en microscopie électronique.
Forme caractéristique à 2 branches [d'après 56]

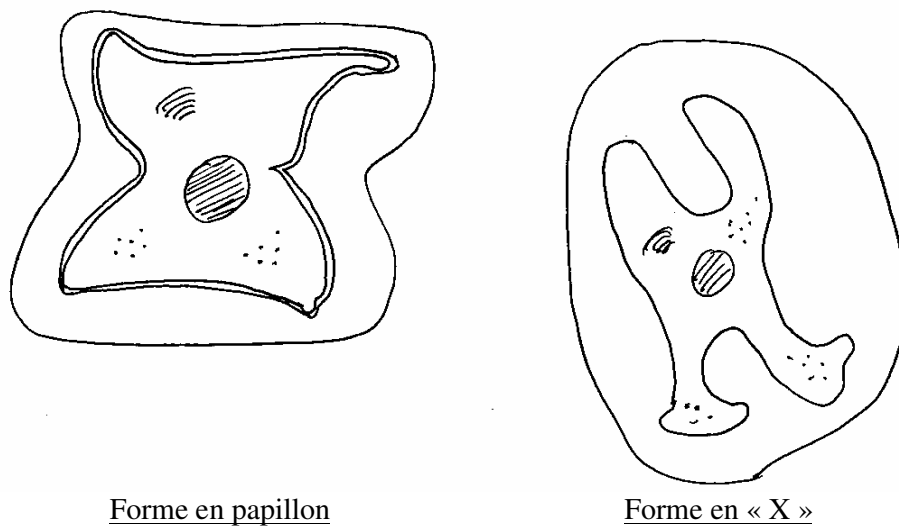


Figure 7 : Gamétocyte d'*H. canis* ou d'*H. americanum* en microscopie électronique.
Autres formes.

La paroi du gamétocyte est constituée d'une membrane limitante externe et d'une membrane limitante interne, entre lesquelles se trouve une structure lamellaire à plusieurs couches [56-75].

Le noyau est généralement très dense avec une hétérochromatine rassemblée en périphérie et une membrane nucléaire très nette, apparaissant comme une zone claire entre le noyau et le cytoplasme [56].

Les structures intracytoplasmiques sont généralement difficilement visibles du fait de la forte densité électronique du gamétocyte. Différents organites ont néanmoins pu être observés : mitochondrie, appareil de Golgi, corpuscules denses, granules ovoïdes, micronèmes fusiformes [56-75].

L'observation d'un complexe apical a parfois été rapportée sur des gamétocytes de forme peu caractéristique, moyennement denses aux électrons et possédant des micronèmes en grand nombre dans leur cytoplasme.[56-115]

Il pourrait s'agir d'une forme de conversion du gamétocyte vers la gamétogénèse.[56]

4. MENSURATIONS

Depuis les premières observations du parasite au début du siècle, de nombreux auteurs ont proposé des mensurations pour le gamétocyte d'*H. canis*, obtenues par micrométrie microscopique : 11-12µm sur 4,5-5,2µm selon Perak, 1906, Malaisie ; 10,5 X 5µm selon Mathis et Léger, 1911, Tonkin ; 8-12µm X 4,5-6µm selon Porter, 1919, Afrique du Sud ; [162] ; 9,5-12µm X 4-5µm pour Carlos et al., 1971, Philippines...

Les dimensions les plus précises concernant le gamétocyte d'*H. canis* sont celles relevées par Waner et al. [162] par la technique de l'analyse d'image et sont les suivantes :

<u>longueur moyenne</u>	11,42µm	(intervalle : 10,66 à 12,99µ)
<u>largeur moyenne</u>	5,39µm	(intervalle : 4,77 à 8,22µ)
<u>aire moyenne</u>	45,88µm ²	
<u>périmètre moyen</u>	28,92µm	

Ces dimensions sont tout à fait concordantes avec celles mesurées par Vincent-Johnson et al., pour un *H. canis* de souche israélienne : $11 \pm 0,64 \mu\text{m}$ sur $4,3 \pm 0,32 \mu\text{m}$ (soit intervalle de $10,1$ à $12,6 \mu\text{m}$ sur $3,6$ à $4,8 \mu\text{m}$) [160].

Le gamétocyte d'*H. americanum* est légèrement plus petit que celui d'*H. canis*. Cette différence de taille est d'ailleurs l'une des principales différences entre les 2 espèces.

Les dimensions moyennes du gamétocyte d'*H. americanum*, mesurées en microscopie électronique sont de $8,8 \pm 0,57 \mu\text{m}$ sur $3,9 \pm 0,54 \mu\text{m}$, l'intervalle des mensurations allant de $7,7$ à $9,8 \mu\text{m}$ sur 3 à $5 \mu\text{m}$ [160].

	<u>H. canis</u>	<u>H. americanum</u>
<u>longueur moyenne</u>	$11,42 \mu\text{m}$ [162] $11 \pm 0,64 \mu\text{m}$ [160]	$8,8 \pm 0,57 \mu\text{m}$ [160]
<u>largeur moyenne</u>	$5,39 \mu\text{m}$ [162] $4,3 \pm 0,32 \mu\text{m}$ [160]	$3,9 \pm 0,54 \mu\text{m}$ [160]

B. SCHIZONTE

1. SCHIZONTE D'*Hepatozoon canis*

Deux types de schizontes sont classiquement décrits, comme nous l'avons déjà évoqué dans le chapitre précédant : [69-75]

- des macroschizontes, mesurant selon les auteurs de 14 à $20 \mu\text{m}$ et contenant 1 à 4 schizozoïtes de grande taille ou macroschizozoïtes.
- des microschantes, mesurant de 40 à $100 \mu\text{m}$ et renfermant plusieurs dizaines de microschantes.

1. a. Microschizontes (Figure 8)

C'est le type le plus fréquemment identifié dans les différents tissus des chiens infectés.

Ces schizontes sont très souvent observés dans la rate [75-106] mais aussi dans le foie, la moelle osseuse, les nœuds lymphatiques, les poumons, les reins et plus rarement le pancréas, la plèvre, le cerveau et les méninges [17-75-106].

L'observation du parasite dans le tissu musculaire est extrêmement rare : 1 seul cas d'observation de schizonte d'*H. canis* au niveau du muscle cardiaque a été rapporté [106]. La plupart des auteurs révèle n'avoir jamais pu mettre en évidence de forme parasitaire d'*H. canis* dans les muscles [17-27-75].

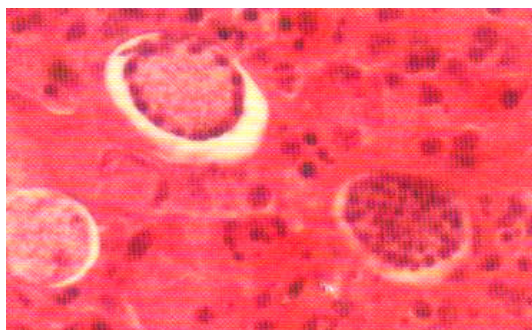


Figure 8 :

3 schizontes d'*Hepatozoon canis* à divers stades de maturation (moelle osseuse, hémalum-éosine, X400)
Source Beaufils et al. [29]

En microscopie optique, ces microschizontes se présentent sous une forme caractéristique, dite en « rayon de roue » (« wheel-spoke pattern ») [26-83].

Ce sont des structures rondes à ovales mesurant 40-60µ [75], voire jusqu'à 100µ [69], et contenant de nombreux schizozoïtes qui peuvent soit se localiser en périphérie du schizonte (là où les masses de chromatine s'étaient disposées en couronne durant la schizogonie) donnant alors l'image typique d'une roue, soit en occuper toute la surface, selon le degré de maturation du schizonte [106].

En microscopie électronique, l'observation d'un microschizonte permet de distinguer [75] :

- les microschizozoïtes (à peu près 6-7µm) souvent situés le long de la membrane du schizonte et eux-mêmes entourés par une double membrane
- un cytoplasme riche en granules d'amylopectine et en corps sphériques électroniques
- une portion centrale constituée d'une masse amorphe correspondant à un corps résiduel modérément dense aux électrons et de nombreuses granules d'amylopectine de tailles variées.

1. b. Macroschizontes

Moins fréquemment observés, ils mesurent 14 à 16µm et contiennent des macroschizontes en petit nombre (1 à 4) mais plus volumineux que les microschantozoïtes [75-106].

En microscopie électronique, on peut visualiser, tout comme pour les microschantozoïtes, un cytoplasme riche en granules d'amylopectine et en corps sphériques électron-denses.

2. SCHIZONTE D'*Hepatozoon americanum*

Les schizontes d'*H. americanum* sont classiquement décrits à l'intérieur de structures kystiques, caractéristiques et spécifiques de l'hépatozoonose nord-américaine, encore appelées « kystes en peau d'oignon ». (Figures 9-10-11) Ces kystes n'ont jamais été décrits ailleurs qu'aux U.S.A. Ils sont observés essentiellement dans les tissus musculaires (muscles striés squelettiques et cardiaque) mais aussi bien que plus occasionnellement dans le pancréas, la rate, les nœuds lymphatiques, le foie, les poumons. [21-48-56-123-124-126-160].

Quelle que soit la localisation anatomique de ces kystes, leur aspect est identique.

Il s'agit d'une structure ronde ou ovale, mesurant de 80 à près de 300µm de diamètre [124] voire jusqu'à 500µm selon certains [160] et composée :

- d'une partie centrale, correspondant à une cellule-hôte modifiée (grande taille (13x20µm à 24x30µm), gros noyau rond ou ovoïde présentant un nucléole proéminent et hypertrophié, cytoplasme granuleux ou grossièrement vacuolisé) contenant un stade schizogonique d'*H. americanum* [56-123-124].
- entourée par un matériel bleuté, mucineux, souvent granuleux, segmenté par des structures lamellaires légèrement basophiles, le tout donnant un aspect écumeux très caractéristique dit « en peau d'oignon » [21-56-123-124].

La structure centrale du kyste a été variablement nommée « masse centrale », « parasite », « noyau », « cœur du kyste » ou « cellule musculaire modifiée » [21-56-160] avant qu'il soit démontré que cette structure centrale est une cellule du chien, d'origine indéterminée mais vraisemblablement non musculaire, modifiée en réponse à la présence intracytoplasmique du parasite [123-124].

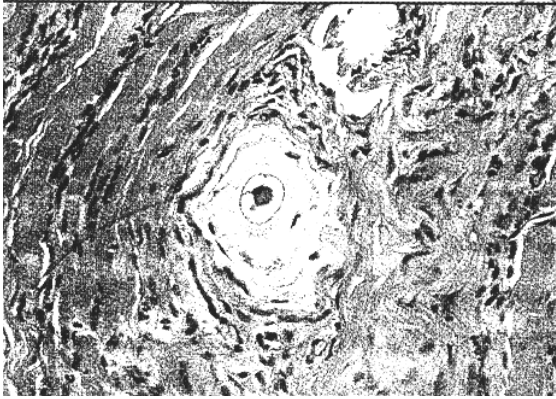


Figure 9 :

Kyste en « peau d'oignon » dans
un muscle squelettique d'un chien
atteint d'hépatozoonose à
H. americanum [159]



Figure 10 :

Kyste mucopolysaccharidique contenant une
cellule-hôte nucléée (flèches) et un corps sphérique
interprété comme étant une forme schizogonique
d'*H. americanum* (tête de flèche) à l'intérieur d'une
vacuole.

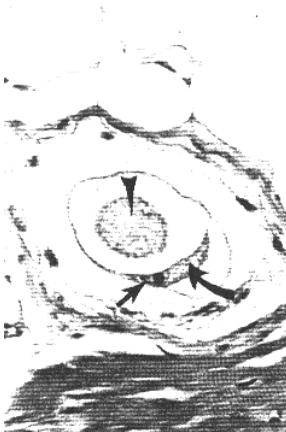


Figure 11 :

Kyste mucopolysaccharidique contenant une
cellule-hôte en forme de croissant (flèche incurvée)
et nucléée (flèche).
La cellule contient un schizonte d'*H. americanum*
(tête de flèche)

Il arrive fréquemment que le kyste paraisse ne pas contenir de cellule (47% des lésions musculaires) ou encore, si cette dernière est présente, qu'elle ne semble pas héberger de stade parasitaire (33,8% des lésions musculaires), sans doute selon le plan de section au travers du kyste. [124]

La morphologie du stade parasitaire contenu dans le kyste est variable en fonction de l'avancement du processus schizogonique et va du simple zoïte (corps ovalaire de 5 X 11µm) au schizonte mature contenant de nombreux schizozoïtes en occupant toute la surface et relativement similaire au microschizonte d'*H. canis*. Les kystes contenant un schizonte mature représentent 0,7% des lésions observées [124].

L'évolution de la taille du kyste en fonction du délai d'inoculation a été bien étudiée sur des chiens infectés expérimentalement [124] : l'apparition du matériel muco-polysaccharidique autour de la cellule-hôte débute vers 4,5 semaines. A ce stade, le kyste mesure 75 X 75µm. A 6 sem., il atteint 60 X 120µm puis 110 X 110µm à 8 semaines. A 10 sem., ses dimensions sont de 100 X 180µm. Elles continuent à augmenter (200 X 200µm à 12 sem., 190 X 280µm à 18 sem.) pour atteindre un maximum de 180 X 290µm à 26 semaines.

C. SCHIZOZOÏTE

1. SCHIZOZOÏTE d'*Hepatozoon canis*

Des schizozoïtes, issus de la rupture d'un schizonte, ont été observés dans divers organes (rein, rate, foie) à l'intérieur de cellules mononuclées constituant des granulomes inflammatoires ainsi que dans des monocytes en situation intracapillaire sur des coupes d'organes. [74-75]

Il s'agit vraisemblablement de microschizozoïtes.

A l'intérieur de la cellule-hôte, le schizozoïte est contenu dans une vacuole parasitophore. C'est une forme ronde ou ovale, mesurant 4µ de diamètre pour les formes rondes jusqu'à 8 X 4µm pour les formes allongées.

Il est délimité par une membrane limitante externe et par une double membrane interne.

Le noyau, bien délimité dans la majorité des cas, peut être absent ou très pauvrement défini.
Un complexe apical en forme de cône est parfois visible.

2. SCHIZOZOÏTE D'*Hepatozoon americanum*

Des schizozoïtes d'*H. americanum* ont été observés à l'intérieur de cellules macrophagiques au niveau des granulomes formés suite à la rupture du kyste. [56-74-75-160].

Le schizozoïte d'*H. americanum* est une structure de forme sphérique, mesurant 3,5 à 4,5µm de diamètre, ou ovoïde, de 4-8µm sur 3-6µm [74-160].

En microscopie électronique, on observe une membrane limitante externe doublée d'une double membrane complexe qui délimite, au niveau de 2 points de discontinuité, un micropore et un anneau polaire.

D. OOKYSTE

1. OOKYSTE D'*Hepatozoon canis*

L'ookyste mûr, situé dans l'hémocoele de la tique, est une structure de forme irrégulière, grossièrement sphérique, mesurant selon les auteurs de 100µm de diamètre [166], à 300 X 150µm [117]. Vincent-Johnson et al. rapportent des mensurations de 215+/-45µm X 193+/-37µm (intervalle 160 à 325µm X 138 à 258µm) [160].

Cet ookyste renferme 30 à 70 sporocystes en moyenne, le nombre de sporocystes/ookyste étant **toujours inférieur à 150**.

Ces sporocystes sont des structures ellipsoïdales, mesurant selon les auteurs 15-30µm de long [117-166] à 35+/-3,5 X 26+/-3µm [160].

Chaque sporocyste contient environ 16 sporozoïtes (10 à 20 selon les auteurs) en forme de banane et mesurant 10 à 15µm de longueur sur 3µm de large [43-117-166].

2 .OOKYSTE D'*Hepatozoon americanum*

L'ookyste d'*H. americanum* est plus gros que celui d'*H. canis*. C'est une structure de forme sphérique et de taille variable, pouvant mesurer selon les auteurs de 150 à 1000µm de diamètre [103-104-160].

Sa taille semble inversement proportionnelle au nombre d'ookystes/tique. Celui-ci, variant de 4 à 573/tique semble lui-même dépendre du mode d'évolution de la maladie chez le chien sur lequel la tique a pris son repas [103].

Le nombre de sporocystes/ookyste est plus important pour *H. americanum* que pour *H. canis* et est en général supérieur à 200 [103-160]. D'après Mathew et al. il varie de 260 à 1040 (moyenne 656+/-176) [103].

Les sporocystes d'*H. americanum* sont des structures sphériques de 20 à 39µm de diamètre [103-104-160] alors que ceux d'*H. canis* sont ellipsoïdaux.

Le nombre de sporozoïtes par sporocyste est selon les auteurs de 8 à 26 [103-104].

Ces sporozoïtes, étroitement serrés entre eux à l'intérieur du sporocyste, sont des structures en forme de banane avec un noyau central et mesurant 13-17µm x 4-7µm [103-104].

Les dimensions des ookystes et sporocystes, le nombre de sporocystes par ookyste, le nombre de sporozoïtes par sporocyste semblent influencés par un certain nombre de facteurs, comme la charge infectante à laquelle est soumis l'arthropode ou la température extérieure à laquelle l'arthropode vit durant le développement du parasite.

CHAPITRE IV : CULTURE

Des essais de culture, de ce que les auteurs pensaient être, au moment de l'expérimentation, *H. canis*, et qui se révèle, au jour des connaissances actuelles, avoir été probablement *H. americanum*, ont été réalisés. Il s'agissait d'exposition de cultures de cellules rénales ou spléniques de chien à un lysat de muscle infecté ou encore de cultures cellulaires de *Rhipicephalus* mises en contact avec des leucocytes de chien parasité [120].

Ces tentatives se sont soldées par des échecs peut-être du fait de l'utilisation de stades inadéquats d'*Hepatozoon*. La mise en culture d'ookystes, prélevés sur des tiques, sur des cellules d'origine canine pourrait sembler plus judicieuse.

CHAPITRE V : ELEMENTS DE SEPARATION ENTRE

Hepatozoon canis ET *Hepatozoon americanum*

Un certain nombre de différences répondant à des critères morphologiques, cliniques et lésionnels ont été relevées, depuis la première description de cas d'hépatozoonose aux U.S.A., entre, d'une part, le parasite nord-américain et le syndrome clinique associé et, d'autre part, l'*Hepatozoon* sévissant partout ailleurs dans le monde (Europe, Asie, Afrique, Moyen-Orient), nommé *H. canis*, et la maladie qu'il entraîne [159].

Ce sont ces différences qui ont conduit les auteurs américains à décrire l'*Hepatozoon* sévissant aux U.S.A., et considéré jusqu'alors comme une souche particulièrement virulente d'*Hepatozoon canis* (dite souche texane), comme une espèce proche mais distincte d'*H. canis*, nommée *Hepatozoon americanum* [160].

Par la suite, des preuves supplémentaires de nature antigénique et génétique ont été apportées, confirmant la séparation d'*H. canis* et d'*H. americanum* en tant qu'espèces différentes [10-102].

A. ELEMENTS MORPHOLOGIQUES ET BIOLOGIQUES

1. MORPHOLOGIE ET LOCALISATION TISSULAIRE DES STADES

SCHIZOGONIQUES D'*Hepatozoon canis* ET D'*Hepatozoon americanum*

Les schizontes en forme de rayon de roue, typiquement observés dans la rate, les nœuds lymphatiques, la moelle osseuse, le foie, les poumons et les reins des chiens parasités par *H. canis* n'ont jamais été décrits chez les chiens infectés aux U.S.A. [75-83-106] (cf. 2^{ème} partie, chapitre III, B. 1.).

Les schizontes d'*H. americanum* sont classiquement décrits à l'intérieur de structures kystiques, caractéristiques et spécifiques de l'hépatozoonose nord-américaine, appelés kystes en peau d'oignon [56-123-124].

Ces kystes n'ont jamais été décrits ailleurs qu'aux U.S.A. et sont observés essentiellement dans les tissus musculaires (muscles striés squelettiques et cardiaque), à l'inverse des schizontes d'*H. canis* qui n'ont jamais été décrits à cette localisation (cf. 2^{ème} partie, chap. III, B. 2.).

2. MORPHOLOGIE ET FREQUENCE DE DETECTION DES GAMETOCYTES

Les gamétocytes d'*H. canis* et d'*H. americanum* présentent une morphologie très similaire. Les mensurations du gamétocyte d'*H. americanum* sont néanmoins légèrement inférieures à celles d'*H. canis* et présentent également quelques particularités ultrastructurales [160] (cf. 2^{ème} partie, chap. IV, A. 2. 3.).

La présence des gamétocytes d'*H. americanum* dans le sang circulant est beaucoup plus inconstante que pour *H. canis*, le taux de leucocytes parasités excédant rarement 0,1% pour *H. americanum* alors qu'il est supérieur à 1% pour *H. canis*, avec des parasitémies atteignant fréquemment 10 à 20% voire 90% de leucocytes parasités [11-23-160] (cf. 4^{ème} partie, chap. VI, C. 1.).

3. MORPHOLOGIE DES OOKYSTES

H. canis et *H. americanum* présentent des différences portant sur la taille de l'ookyste, le nombre de sporocystes/ookyste et la forme des sporocystes (cf. 2^{ème} partie, chap. III, D.).

4. IDENTITE DU VECTEUR ARTHROPODE

L'arthropode hématophage vecteur d'*H. canis* est connu depuis longtemps : il s'agit de la tique *Rhipicephalus sanguineus* [13-42].

Il a été démontré récemment que la tique vectrice d'*H. americanum* n'était pas *Rhipicephalus sanguineus*, comme on l'a longtemps supposé, mais *Amblyomma maculatum* [64-103-104-123] (cf. 3^{ème} partie, chap. II, B. 1.).

B. ELEMENTS CLINIQUES ET LESIONNELS

L'infection canine par *H. canis* est fréquemment asymptomatique ou sub-clinique [2-14-27] alors que le portage asymptomatique semble beaucoup moins fréquent pour *H. americanum* [95].

Malgré de nombreux points communs quant à l'évolution chronique et capricieuse de la maladie et à la nature des symptômes observés dans l'hépatozoonose à *H. canis* et celle à *H. americanum*, le tableau clinique de l'hépatozoonose nord-américaine est beaucoup plus dramatique (avec hyperthermie importante, algies intenses quasi-systématiques, troubles locomoteurs sévères) et son issue plus régulièrement fatale (cf. 4^{ème} partie, chap. I, A. B.).

Le tableau clinique de l'hépatozoonose à *H. canis* est dominé par fièvre, abattement, anorexie, anémie, faiblesse musculaire, algies souvent modérées, et l'issue est la plupart du temps favorable (cf. 4^{ème} partie, chap. I, A. B.).

Une leucocytose très marquée liée à une neutrophilie est un élément quasi-constant de l'hépatozoonose à *H. americanum* alors qu'elle est inconstante et plus modérée dans l'hépatozoonose à *H. canis* (cf. 4^{ème} partie, chap. II, A. 2.).

Une ostéoprolifération périostée plus ou moins généralisée (visible à la radio et retrouvée à l'autopsie) est un élément typique et fréquent dans l'hépatozoonose nord-américaine, mais n'a jamais été observée dans l'hépatozoonose à *H. canis* (cf. 4^{ème} partie, chap. III).

Sur le plan lésionnel, la myosite pyogranulomateuse, constante dans l'hépatozoonose nord-américaine, n'est pas retrouvée dans l'hépatozoonose à *H. canis*. (cf. 4^{ème} partie, chap. IV, B. 2.b.).

C. ELEMENTS GENETIQUES

Deux équipes de chercheurs indépendantes (une équipe américaine et une équipe israélienne) ont analysé une portion du gène 18S rRNA d'*H. canis* et d'*H. americanum*.

Ces analyses ont néanmoins porté sur des régions différentes du gène 18S rRNA et ont abouti à des conclusions différentes.

Mathew et al. [102] ont observé une divergence séquentielle de 3,6% entre *H. canis* et *H. americanum* alors que cette divergence est de 13,5% pour Baneth et al. [10].

D. ELEMENTS ANTIGENIQUES

La réalisation de tests hétérologues d'Immunofluorescence indirecte et de Western Blot (source d'antigènes = gamontes d'*H. canis*/sérum de chiens infectés par *H. americanum*) indique une certaine communauté antigénique entre *H. canis* et *H. americanum* (réactions croisées) mais montre que l'infection par *H. americanum* induit une réponse en anticorps qui détecte seulement certains antigènes d'*H. canis*.

Les deux espèces sont donc proches mais néanmoins distinctes sur le plan antigénique [10-160] (cf. 4^{ème} partie, chap. VI, D. 1. 3.).

3^{ème} PARTIE :

EPIDEMIOLOGIE

CHAPITRE I : EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE

A. POPULATION AFFECTEE

La spécificité d'hôte d'*H. canis* et d'*H. americanum* est à l'heure actuelle mal connue.

Différentes formes parasitaires (schizontes ou gamontes) appartenant à *H. canis* (voire à *H. americanum* ?) où à une espèce indéterminée très proche de ces derniers ont été rapportées, outre chez le chien, chez de nombreux Carnivores.

Ainsi des *Hepatozoon sp.* ont été observés chez des :

- Canidés :
 - Chacal (*Canis aureus* - *C. mesomelas*) [106-142]
 - Hyène (*Hyena crocuta*) [106]
 - Coyotte (*Canis latrans*) [50-85-86-107]
 - Renard (*Vulpes vulpes* – *V. bengalensis*) [29-45-98-136]
 - Cerdocyon d'Amérique du Sud (*Cerdocyon thous*) [3]
- Félidés :
 - Chat domestique (*Felis catus*) [9-12-68-84-156]
 - Lion (*Panthera leo*) [38-58-106]
 - Léopard (*Panthera pardus*) [38-82-106]
 - Guépard (*Acinonyx jubatus*) [106]
 - Lynx (*Lynx rufus*) [90-108]
 - Ocelot (*Felis pardalis*) [108]
 - Chat manul d'Asie Centrale (*Felis manul*) [19]
- Viverridés
 - Genette (*Genetta trigrina* – *G. rubiginosa*) [35-82]
 - Paradoxure d'Asie (*Paradoxurus hermaphroditus*) [Laird, 1954 cité par 63]
- Mustelidés
 - Martre (*Martes melampus*) [169]

- Vison (*Mustela vison*) [Presidente et Karstad, 1975 cité par 50]
- Putois de Sibérie [Novila et al., 1980 cité par 169]

Parmi les Mammifères, on rencontre aussi des *Hepatozoon* chez des Ruminants [106] et des Rongeurs [147] mais aussi des Marsupiaux, Insectivores et Léporidés [147].

S'agit-il de parasites distincts ou peut-on au contraire les regrouper au sein d'1 ou 2 ou 3 espèces d'*Hepatozoon* ?

Par le passé, il a été attribué à chaque espèce de Mammifère parasitée une espèce ou une variété d'*Hepatozoon* : *H. rotundatum*, Patton 1910 chez le chacal (*Canis aureus*) de l'Inde, *H. canis adusti*, Nuttal 1910 chez le chacal (*Canis adustus*) d'Afrique de l'Est, *H. chattoni*, Léger 1912 chez la hyène (*H. crocuta*), *H. felis domesticus*, Patton 1908 chez le chat, etc...

Inversement, divers auteurs, comme Levine ont considéré que c'était *H. canis* qui infestait le chien et les Carnivores sauvages [92]. De la même façon, Wenyon a regroupé *H. felis domesticus* avec *H. canis*, jugeant le parasite du chat morphologiquement indistinct d'*H. canis* chez le chien, la hyène et le chacal [166].

Dans la plupart des observations, les différences morphologiques entre les schizontes et les gamétocytes des différentes espèces sont en effet trop infimes pour permettre une quelconque distinction.

Beaufils et al., ont néanmoins rapporté, chez deux chats domestiques, l'observation d'un *Hepatozoon. sp.* dont les gamétocytes présentaient des différences notables avec ceux d'*H. canis* [30].

Par ailleurs, l'hépatozoonose chez le chat et les Félidés sauvages est la plupart du temps associée à un parasitisme myocardique [30-58-82-84-106] alors que l'hépatozoonose à *H. canis* chez le chien dans les régions méditerranéennes, l'Asie et l'Afrique affecte certains tissus ou organes parenchymateux et que l'hépatozoonose nord-américaine à *H. americanum* provoque essentiellement une atteinte des muscles squelettiques.

Il semble donc légitime d'émettre l'hypothèse que l'*Hepatozoon* chez le chat pourrait être une espèce distincte d'*H. canis* ou d'*H. americanum*.

De même, l'observation d'un *Hepatozoon sp.* chez le renard, toujours par Beaufile et al., les a conduit à douter du fait qu'il s'agissait d'*H. canis* au vu de certaines différences morphologiques [29].

Des tentatives de transmission interspécifique du parasite du chacal au chien [106] et du chien au chat [120] ont été réalisées, mais leurs résultats peu probants ne permettent pas de tirer de conclusions.

Il a par contre récemment été prouvé [85-86] que *H. americanum* était également l'*Hepatozoon sp.* décrit depuis de nombreuses années chez le coyote [50-108].

Il a ainsi été démontré :

- qu'*H. americanum* est endémique chez le coyote (*Canis latrans*) dans certaines régions d'Oklahoma : reconnaissance de stades tissulaires du parasite (kystes en peau d'oignon) ressemblant étroitement à ceux d'*H. americanum*, dans les muscles squelettiques et cardiaques et le tissu adipeux sous-cutané de coyotes infectés.
- que des coyotes infectés expérimentalement développent des signes cliniques (inclus les lésions de prolifération osseuse périostée caractéristiques de l'hépatozoonose chez le chien aux U.S.A.) comparables à ceux produits chez des chiens expérimentalement infectés.
- que des nymphes d'*Amblyomma maculatum* peuvent s'infester par un repas sur un coyote parasité par *H. americanum* et devenir porteuses d'ookystes au stade adulte.

La réponse à la question de la spécificité d'hôte d'*H. canis* et d'*H. americanum* reste donc aujourd'hui incomplète et requiert des recherches concernant l'ultrastructure et la transmission interspécifique des parasites. Des comparaisons de séquences d'A.D.N. pourraient en outre éclairer le sujet sous un jour nouveau.

B. REPARTITION DANS LE TEMPS

On pourrait s'attendre à une répartition saisonnière de la maladie liée à l'activité des tiques. En fait, les publications sont plutôt contradictoires sur ce point.

Barton et al. [21] décrivent leurs 15 cas comme répartis tout au long de l'année alors qu'Elias et Homans [60] rapportent que la plupart des 66 cas qu'ils ont rencontrés ont été diagnostiqués entre mai et septembre. Les conclusions de Beaufils et al. [29] vont également dans ce sens puisque les 81 cas qu'ils ont été amenés à diagnostiquer entre 1985 et 1993, 58% l'ont été entre juin et septembre. D'autres auteurs rapportent également une augmentation des cas cliniques entre mai/juin et octobre/novembre [17-97].

Une telle répartition saisonnière peut s'interpréter comme un reflet de l'activité des tiques sur cette période mais pourrait également être liée au fait que, selon deux publications récentes, la **parasitémie** d'un chien **semble varier en fonction des saisons**, le pourcentage de leucocytes infestés augmentant au printemps et en été pour diminuer ensuite [67-118].

Un chien porteur d'*Hepatozoon* aurait donc plus de chances d'être détecté en été qu'en hiver. Au vu de ces diverses conclusions et dans l'attente d'études complémentaires sur la saisonnalité de l'apparition des gamontes dans le sang, il semble que la répartition saisonnière des cas cliniques soit assez mal définie, ceci s'expliquant sans doute par l'évolution capricieuse de la maladie qui dissocie date de contamination et date d'apparition des symptômes et par l'abondance de porteurs sains découverts tout au long de l'année, surtout en ce qui concerne l'hépatozoonose à *H. canis*.

C. REPARTITION DANS L'ESPACE

La maladie se superpose dans une large mesure aux zones de répartition des tiques vectrices.

La répartition géographique de l'hépatozoonose à *H. canis* correspond à celle de la tique *Rhipicephalus sanguineus* : régions tempérées chaudes, subtropicales et tropicales c'est-à-dire Afrique, Moyen-Orient, Asie, bassin méditerranéen.

Aux U.S.A., où la maladie, due à *H. americanum*, est transmise par *Amblyomma maculatum*, les cas sont retrouvés dans les zones d'habitat naturel de la tique : Sud, Sud-est des Etats-Unis et plus particulièrement états limitrophes du Golfe du Mexique (Texas, Alabama, Louisiane, Géorgie, Mississippi, Oklahoma).

D. ALLURE DE LA MALADIE

- L'hépatozoonose est une enzootie, c'est-à-dire que c'est une maladie qui sévit de façon régulière chez l'animal dans une région donnée.
- La prévalence de la maladie est variable selon les régions mais également selon les techniques de diagnostic utilisées. (Figure 12).

En effet, la plupart des recensements reposent sur des méthodes de diagnostic incertaines (hématologie, histologie) en l'absence au moment de leur réalisation d'un test de dépistage sérologique : les chiffres obtenus par détection des gamontes sur étalement sanguin sont donc probablement des sous-estimations.

Une étude menée il y a quelques années par Baneth et al. [14] illustre remarquablement ce point : 286 chiens ont été soumis à un dépistage d'hépatozoonose par recherche de gamétocytes sur frottis sanguin ; 3 chiens seulement (soit 1%) se sont révélés porteurs d'*H. canis*. Par ailleurs, 160 chiens choisis aléatoirement parmi les 286 ont été soumis à une détection des anticorps circulant contre *H. canis* par la technique d'immunofluorescence indirecte.

Le résultat est édifiant : 53 chiens ont présenté un titre en anticorps positif (c'est-à-dire supérieur ou égal à 1 : 32) ce qui donne alors une prévalence, non plus de 1%, mais de 33,1% !! ; suggérant qu'1/3 de la population canine israélienne a été à un moment donné exposée à *H. canis*.

L'existence chez un chien d'un titre positif en anticorps sans présence microscopiquement détectable de gamétocytes sanguins peut résulter soit d'un contact antérieur avec *H. canis* suivi d'une élimination du parasite, soit d'une infection persistante avec une parasitémie intermittente, soit encore d'un très petit nombre de gamétocytes circulants rendant leur détection aléatoire.

Aux U.S.A., aucune étude de la prévalence de l'infection du chien à *H. americanum* n'a, à ce jour, été réalisée.

Figure 12 : Prévalence de la maladie dans différents pays en fonction de la technique de dépistage

	par détection des gamontes sur étalement sanguin	par recherche de schizontes sur biopsies d'organes	par sérologie
INDE	100% à Madras [41]	-	-
	2.5% à Hissar et Delhi [Bansal et al. cités par 26]	-	-
MALAISIE	1.2% [135]	-	-
THAÏLANDE	2.1% [69]	-	-
JAPON	-	-	4.2% [78]
NIGERIA	20.9% [122]	-	-
	22% [66]	-	-
	20% [1]	-	-
BRESIL	31.6% [Massard cité par 121]	-	-
	39.2% [121]	-	-
ISRAËL	-	2.3% [83]	-
	-	1% [14]	33.1% [14]
PORTUGAL	-	36% [69]	-
ESPAGNE	-	30% [67-80b]	-

- C'est une maladie à évolution limitée dans l'espace : l'hépatozoonose canine, on l'a vu, se limite à des zones géographiques données : bassin méditerranéen, Sud-est des Etats-Unis, etc.. Néanmoins depuis sa découverte aux U.S.A. en 1978 dans le sud du Texas où la maladie a semblé se cantonner durant plusieurs années, l'hépatozoonose est de plus en plus fréquemment diagnostiquée dans les états plus ou moins directement voisins du Texas.

De même, la maladie n'est apparue que récemment dans certains pays : c'est le cas du Japon, par exemple, où les premiers cas ont été rapportés en 1991 mais aussi dans divers pays d'Amérique latine.

En Europe, la Grèce, l'Espagne, l'Allemagne sont elles aussi touchées depuis une dizaine d'années seulement.

- C'est une maladie à évolution illimitée dans le temps : depuis sa découverte en 1905, elle a toujours été présente dans les régions où elle était implantée.
- C'est une maladie qui peut évoluer sous la forme de foyers (atteinte de plusieurs animaux d'une même maison ou chenil). Même si on observe souvent une répartition homogène de la maladie dans une région donnée [27], des foyers d'hépatozoones ont été à plusieurs reprises décrits [29-38-39-97].

CHAPITRE II : EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE

A. SOURCE D'AGENTS

1. HEPATOZOONOSE A *Hepatozoon canis*

En ce qui concerne *H. canis*, le réservoir est constitué par les chiens (et peut-être les Carnivores sauvages) infestés.

Ce phénomène est d'autant plus important que la maladie est rarement mortelle à court terme et que de nombreux chiens contaminés vont donc servir de réservoir pendant plusieurs années, tout en extériorisant peu ou pas de symptômes.

En l'absence de certitudes sur la spécificité d'hôte d'*H. canis*, le rôle du réservoir sauvage reste à définir.

De nombreuses publications décrivent l'infection généralement asymptomatique de Carnivores sauvages (en particulier le renard en Europe) par des *Hepatozoon sp.* [3-29-45-82-98-106] et suggèrent que ces animaux souvent lourdement parasités (leishmanies, filaires, parasites intestinaux) pourraient constituer un réservoir pour le chien domestique.

Ce réservoir aurait un poids épidémiologique d'autant plus important que la prévalence de l'infection à *Hepatozoon* chez certaines espèces sauvages est particulièrement élevée : 48% d'animaux parasités chez la population vulpine au Portugal [45] - 96% chez la martre (*Martes melampus*) au Japon [169].

D'autres auteurs restent beaucoup plus réservés sur le rôle possible de réservoirs sauvages et notamment sur la transmission des *Hepatozoon* du renard au chien [29].

Le rôle du chat domestique en tant que réservoir de l'hépatozoonose à *H. canis* est également à considérer avec prudence, l'identification de l'espèce d' *Hepatozoon* parasitant les Félidés

étant incertaine. Si toutefois il s'agissait d'*H. canis*, l'importance d'un tel réservoir resterait limitée, l'incidence de l'hépatozoonose chez le chat étant semble-t-il assez faible [9-12-30-84].

2. HEPATOZOONOSE A *Hepatozoon americanum*

Dans le cas de l'hépatozoonose nord-américaine, le chien constitue bien entendu une source non négligeable d'*H. americanum*. L'évolution généralement fatale à beaucoup plus court terme que ce que l'on observe pour l'hépatozoonose hors U.S.A. en limite néanmoins l'importance.

Il a en outre été récemment démontré que le coyote (*Canis latrans*) est un hôte possible pour *H. americanum* qui provoque, chez ces animaux sauvages, des symptômes et lésions similaires à ceux observés chez le chien [85-86], le parasite sévissant de façon endémique dans cette espèce en Oklahoma [85-86] et sur le golfe texan [50-108]. L'observation de 9 animaux parasités sur 16 capturés dans une étude [85] et de 8 animaux/20 dans une autre [86] suggère que ces Canidés sauvages constituent sans doute une composante importante de l'émergent problème que constitue l'hépatozoonose chez le chien aux U.S.A.

On suspecte néanmoins l'existence d'un ou plusieurs autres réservoirs sauvages, abondants et cosmopolites, encore inconnus mais qui pourraient être des Oiseaux ou des Rongeurs au vu du tropisme d'hôte de la tique vectrice *Amblyomma maculatum* [64-85].

B. MODALITES DE TRANSMISSION

1. TRANSMISSION NATURELLE

1. a. Transmission par vecteur arthropode hématophage

α / Arthropodes vecteurs d'*H. canis*

α . 1. *Rhipicephalus sanguineus* : vecteur principal d'*H. canis*

Rhipicephalus sanguineus est connue depuis le début du XXème siècle comme étant le vecteur essentiel d'*H. canis* [42-43], dont le cycle a été précocement décrit chez cette tique. Depuis, plusieurs travaux ont confirmé son rôle de vecteur d'*H. canis*, par l'infection expérimentale de chiens ayant ingéré des adultes de *R. sanguineus* contaminés [13-16-106-165].

α. 1. 1. Rappel de taxonomie

Il s'agit d'un Acarien,

du sous-ordre des Méstigmates ou Ixodiformes ou « tiques »,

de la famille des Ixodidés ou « tiques dures »,

(tégument en partie sclérifié formant un écusson ; dimorphisme sexuel ; rostre terminal ;
stigmates en arrière des hanches IV)

et des genre et espèce : *Rhipicephalus sanguineus*,

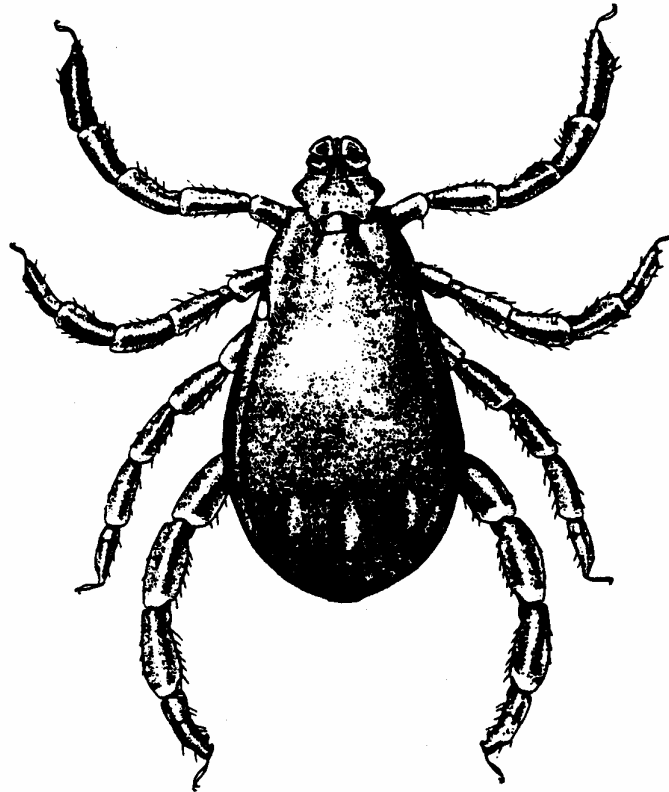
(metastriata = sillon anal en arrière de l'anus ; brévirostre = longueur des palpes
inférieure au double de la largeur).

α. 1. 2. Morphologie (Figure 13)

Suivant le sexe et l'état de réplétion, *R. sanguineus* mesure entre 2-3 mm (mâle, femelle non gorgée) et 11-12 mm (femelle gorgée).

La partie postérieure de son corps est ornée de festons et son scutum ne présente peu ou pas de ponctuations.

Vue dorsale



Vue ventrale

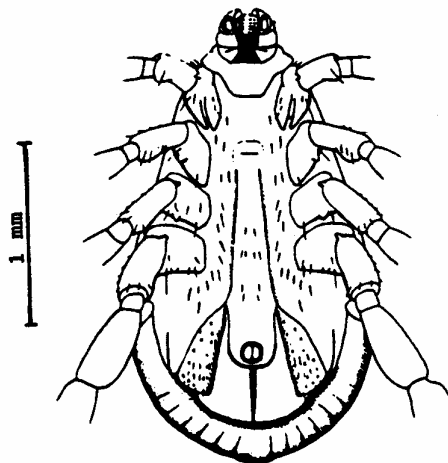


Figure 13: Morphologie de *Rhipicephalus sanguineus*. [36]

α. 1. 3. Habitat et distribution géographique

R. sanguineus, la « tique brune du chien » des Américains (ou Brown Dog Tick) est une tique très largement répandue à travers le monde, notamment du fait de son habitat endophile (qui lui a valu le surnom de « tique des chenils » et rend cette tique, à l'origine xérophile et thermophile, relativement indépendante du climat).

Elle est particulièrement abondante dans le Sud-Est de la France et on la retrouve dans le sud de l'Europe, aux U.S.A., en Amérique centrale et du sud, en Afrique, dans certaines zones d'Asie (Chine, Inde...), en Australie... mais rarement au dessus de 800 m d'altitude [34].

Véritable tique domestique, *R. sanguineus* trouve refuge à l'extérieur des habitations sur les façades, dans les alvéoles des murs crépis, dans les embrasures des portes et volets, dans les murets de pierre. Elle est également observée à l'intérieur des habitations dans les tapis et moquettes, les fissures du plancher et bien sûr le panier du chien. Les chenils apparaissent comme un lieu privilégié pour le développement de *R. sanguineus* et sont entre autre perpétuellement réensemencés par des chiens parasités.

Même si on peut retrouver *R. sanguineus* en zone urbaine, ce sont les maisons individuelles avec jardin des zones périurbaines qui constituent le meilleur biotope.

La dispersion de la tique est assurée essentiellement par la divagation des chiens parasités et son extension favorisée par le développement des zones périurbaines.

α. 1. 4. Hôtes - distribution sur l'hôte

Peu agressive envers l'Homme, *R. sanguineus* parasite essentiellement le chien (notamment aux U.S.A. où le chien est son hôte quasi-exclusif), accessoirement le chat, et plus rarement d'autres espèces (lapin, Rongeurs, ongulés : porc, cheval..., et certains oiseaux). Ce sont essentiellement les formes pré-imaginale (larve et nymphe) qui peuvent parasiter les Rongeurs et le bétail (notamment en Afrique), les formes adultes étant beaucoup plus spécifiques du chien [34-168].

Sur le chien, les régions du corps que l'adulte affectionne sont les oreilles, le cou et la région interdigitée. Les larves et les nymphes se trouvent d'avantage dans les zones dont le poil est plus fourni telles que le cou et le poitrail.

α.1. 5. Cycle (Figure 14)

Rhipicephalus sanguineus évolue selon un cycle triphasique (3 hôtes sont requis pour le déroulement complet du cycle) et le plus souvent monotrope (une seule espèce est parasitée).

Le cycle peut se dérouler en 2 mois dans les conditions optimales ($T^{\circ} > 18^{\circ}\text{C}$ – hygrométrie $> 50\%$) mais il dure généralement 4 mois et $\frac{1}{2}$.

L'accouplement du mâle et de la femelle a lieu après fixation sur l'hôte. Si la femelle n'est pas fécondée, elle débute son repas mais ne le poursuivra qu'au contact d'un mâle. Après la fécondation et le repas de sang – indispensable à la maturation des œufs – la tique femelle chute au sol et cherche un abri où elle effectuera une unique ponte avant de mourir.

L'ovogénèse dure 3 jours à 3 mois selon la température. 500 à 7000 œufs sont pondus. L'incubation de l'œuf dure de 15 à 30 jours au terme desquels naît une larve hexapode. Le repas sanguin que celle-ci prend ensuite sur un chien déclenche la mue : la larve tombe au sol – où elle se déplace peu – et donne naissance à la nymphe, un mois plus tard. De même, la nymphe recherche un hôte, se gorge, et se métamorphose au sol en adulte, mâle ou femelle.

α.1. 6. Période d'activité

En pays tempéré, l'activité des adultes est maximale au printemps et à la fin de l'été/début de l'automne. On observe ainsi 2 pics d'activité : le premier en mai et le second en août.

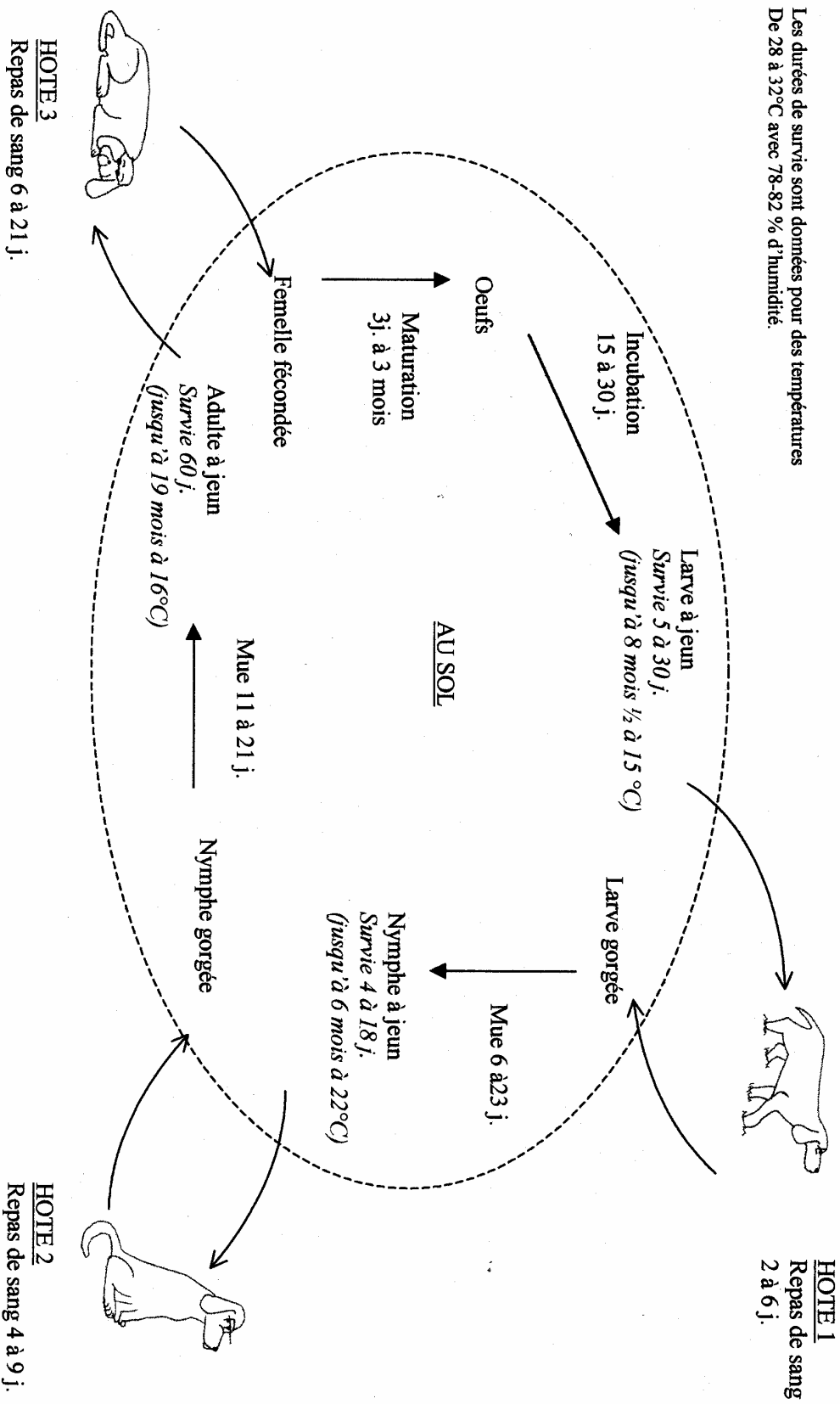
La température optimum pour l'adulte est de 15 à 22°C. L'activité imaginale devient ensuite pratiquement nulle pendant l'hiver.

L'hibernation se fait à l'état d'imago : on parle de pause hivernale qui, si elle dure trop longtemps, conduit à la mort de la tique.

Les formes immatures, plus fragiles, existent surtout en été. Les larves sont retrouvées sur les chiens en juillet. Les nymphes sont nombreuses aux mois de juillet et août. Le pic d'activité imaginale observé en août correspond à l'entrée en activité des adultes issus des nymphes de l'année. Quant aux adultes éclos en automne, ils passent l'hiver à l'abri dans les anfractuosités des murs et n'effectueront un repas de sang qu'au printemps suivant.

Figure 14 : Cycle de *Rhipicephalus sanguineus* [d'après 26 et 34]

Les durées de survie sont données pour des températures
De 28 à 32°C avec 78-82 % d'humidité.



α. 1. 7. Transmission d'*Hepatozoon canis*

Rhipicephalus sanguineus se contamine par ingestion de leucocytes parasités lors d'un repas sanguin sur un chien infecté par *H. canis*. Ceci marque le début de la phase de sporogonie qui aboutit, on l'a vu, à la constitution d'ookystes mûrs, libres dans l'hémocoel de la tique.

La possibilité de contamination de *R. sanguineus* a été démontrée pour le stade nymphal [13] mais non pour le stade larvaire. Christophers en 1912 était arrivé à la conclusion que la larve de *R. sanguineus* ne pouvait pas acquérir l'infection à *H. canis* après un repas sur un chien atteint d'hépatozoonose. Néanmoins, comme nous le verrons plus loin, la larve d'*Amblyomma maculatum* peut se contaminer avec *H. americanum* et devenir infestante au stade nymphal. La question du potentiel de la larve *R. sanguineus* à se contaminer lors d'un repas sanguin sur un chien infecté par *H. canis* reste donc à élucider.

R. sanguineus est un vecteur efficace pour *H. canis*. Il a été démontré que 85% des tiques adultes, issues de nymphes nourries sur un chien naturellement infecté ayant une parasitémie de 48%, sont porteuses d'ookystes [13].

Il est probable que des animaux avec des parasitémies plus faibles puissent également infecter une forte proportion de tiques, grâce à la capacité de la tique à ingérer et à concentrer plusieurs fois son propre poids de sang et donc à extraire un grand nombre de gamontes d'un chien contenant relativement peu de parasites.

On observe, chez *R. sanguineus*, une transmission trans-stadiale d'*H. canis*. La nymphe nourrie sur un chien infecté devient contaminante au stade adulte.

Par contre, il n'y a pas de transmission transovarienne, comme cela existe pour *Babesia* par exemple. Ce mode de transmission n'a d'ailleurs jamais été rapporté chez le vecteur arthropode d'aucune autre espèce d'*Hepatozoon* [13].

Il semble qu'un stimulus, appliqué à l'adulte de *R. sanguineus*, tel une élévation de température (incubation à 37° pendant quelques jours) ou un repas de sang, facilite l'activation du pouvoir infectieux d'*H. canis* [13].

La transmission de la maladie se fait par ingestion de la tique par un chien, lorsque celui-ci se mord ou se toilette.

La transmission par la salive de tique, à l'occasion d'une morsure, n'a jamais été démontrée. Les ookystes n'ont d'ailleurs été retrouvés que dans l'hémocoel de la tique et jamais dans les glandes salivaires [117-120-166].

α. 2. Autres vecteurs tiques d'*H. canis*

Il est possible que d'autres espèces de tiques que *Rhipicephalus sanguineus* puissent être impliquées dans la transmission d'*H. canis*.

Ainsi, au Japon, des ookystes d'*H. canis* ont été détectés dans l'hémocoel d'un adulte d'*Haemaphysalis longicornis* et d'une nymphe d'*Haemaphysalis flava*.

Il faut d'ailleurs souligner qu'alors que l'hépatozoonose canine est largement répandue dans l'ouest du Japon, les tiques qui ont pu être collectées sur des chiens infectés dans cette région ont été déterminées comme appartenant aux espèces *Haemaphysalis longicornis*, *Haemaphysalis flava*, *Haemaphysalis campanulata*, *Ixodes ovatus*, *Ixodes nipponensis* et *Ixodes periculatus* mais jamais à l'espèce *R. sanguineus* [117].

Au Brésil, une corrélation positive a été établie entre la présence chez le chien de la tique *Amblyomma cajennense* et l'infection à *H. canis*, suggérant que cette tique pourrait être un vecteur pour *H. canis* (si toutefois l'*Hepatozoon* sévissant en Amérique du Sud est bien *H. canis*, ce qui ne pourra être affirmé avec certitude qu'après des investigations moléculaires et génétiques) [121].

D'autre part, Mac Cully et al., ont montré l'existence de stades sporogoniques d'un *Hepatozoon sp.* chez des tiques *Rhipicephalus simus* prélevées sur des hyènes infectées dans le parc National Kruger, en Afrique du Sud [166].

Penzhorn et al., ont identifié des ookystes d'*Hepatozoon sp.* chez *Rhipicephalus appendiculatus*, *Amblyomma habraeum* et *Amblyomma marmoreum* collectées sur des lions [131].

β. Arthropodes vecteurs d'*H. americanum*

β. 1. *Amblyomma maculatum* : vecteur principal d'*H. americanum*

Rhipicephalus sanguineus a tout d'abord été suspectée d'être le vecteur d'*H. americanum*, considéré alors comme la souche texane d'*H. canis* [49].

Bien que la capacité de cet Ixodidé à transmettre au chien l'*Hepatozoon* d'origine texane ait été démontrée expérimentalement [120], tous les essais de transmission d'*Hepatozoon americanum* au chien par l'intermédiaire de *R. sanguineus* ou de contamination de *R. sanguineus* par un repas sur un chien contaminé, réalisés par la suite, se sont révélés infructueux [104-160].

En 1997, Vincent-Johnson et al. ont observé des ookystes d'*Hepatozoon sp.* chez 4 adultes d'*Amblyomma maculatum* collectés sur un chien naturellement infecté par *H. americanum* [160].

Il a été à présent démontré qu'*Amblyomma maculatum* est un excellent hôte vecteur d'*H. americanum* [64-103-104-124].

β. 1. 1. Rappel de taxonomie

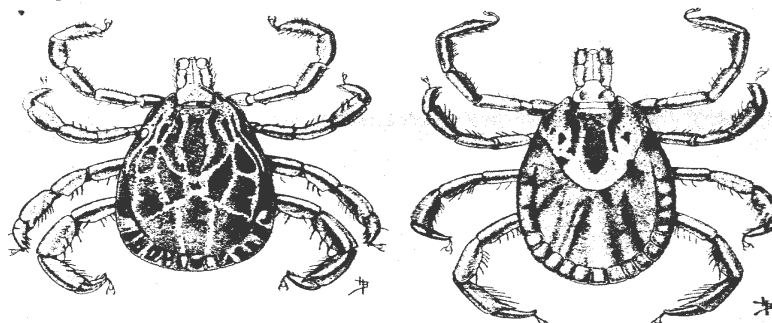
Amblyomma maculatum appartient à la même famille que *Rhipicephalus sanguineus*, celle des Ixodidés, et au même groupe des Metastriata (sillon anal en arrière de l'anus).

C'est par contre une tique longirostre (longueur des palpes triples ou quadruples de la largeur).

β. 1. 2. Morphologie

La femelle mesure de 8 à 20mm de long selon l'état de réplétion.

La partie postérieure du corps présente des festons et le scutum est orné. L'épine de la hanche I est double et courte. Le mâle ne possède pas d'écussons ventraux. [32b-137-161].



Mâle : vue dorsale

Femelle non gorgée : vue dorsale

Figure 15 : Morphologie d'*Amblyomma maculatum* [32b]

β. 1. 3. Habitat et distribution géographique

Primitivement limitée aux régions humides et tièdes de la zone côtière du golfe du Mexique (Texas, Floride, Georgie), d'où son nom américain de « Gulf Coast Tick », on a longtemps pensé que cette espèce ne pouvait s'établir à plus de 160 km des côtes [32-32b].

Depuis une trentaine d'années, néanmoins, on rapporte une extension progressive de la distribution géographique d'*A. maculatum*, de plus en plus loin à l'intérieur du continent nord-américain : Oklahoma (est et centre), Kansas, Kentucky [110-141-152-155-167].

Amblyomma maculatum est en outre retrouvée en Amérique du Sud (Colombie, Pérou, Equateur, Chili, Brésil, Paraguay, Argentine...) et à la Jamaïque.

La dispersion d'*Amblyomma maculatum* par les oiseaux est un facteur important de son extension géographique.

β. 1. 4. Hôtes

A. maculatum présente une assez large spécificité d'hôte.

L'adulte d'*A. maculatum* a pour hôte préférentiel de nombreux gros herbivores [32b-59-141-152-167] mais peut aussi parasiter certaines Carnivores comme le coyote [85-141], ou le chien domestique [160] ainsi que des Léporidés (*Lepus californicus*).

Mercer et al. ont également rapporté le stade adulte d'*A. maculatum* sur le lynx (*Lynx rufus*) et l'ocelot (*Felis pardalis*) au Texas [108].

La larve et la nymphe d'*A. maculatum* parasitent préférentiellement les petits mammifères (lagomorphes, rongeurs) et certains oiseaux à l'habitat terrestre (notamment *Sturnella magna*) [32-32b-141-155].

Elles peuvent accessoirement parasiter le coyote mais plus rarement que l'adulte [141].

Sur l'hôte et notamment sur les gros herbivores, *Amblyomma maculatum* se fixe essentiellement sur la face interne de l'oreille où elle provoque une irritation cutanée importante favorisant le développement de myases. Elle induit aussi fréquemment une déformation des oreilles du bétail (oreilles tombantes) par destruction du cartilage.

En outre, sa piqûre est douloureuse et une importante quantité de sang est prélevée lors du repas [32b-161].

β. 1. 5. Cycle (Figure 16)

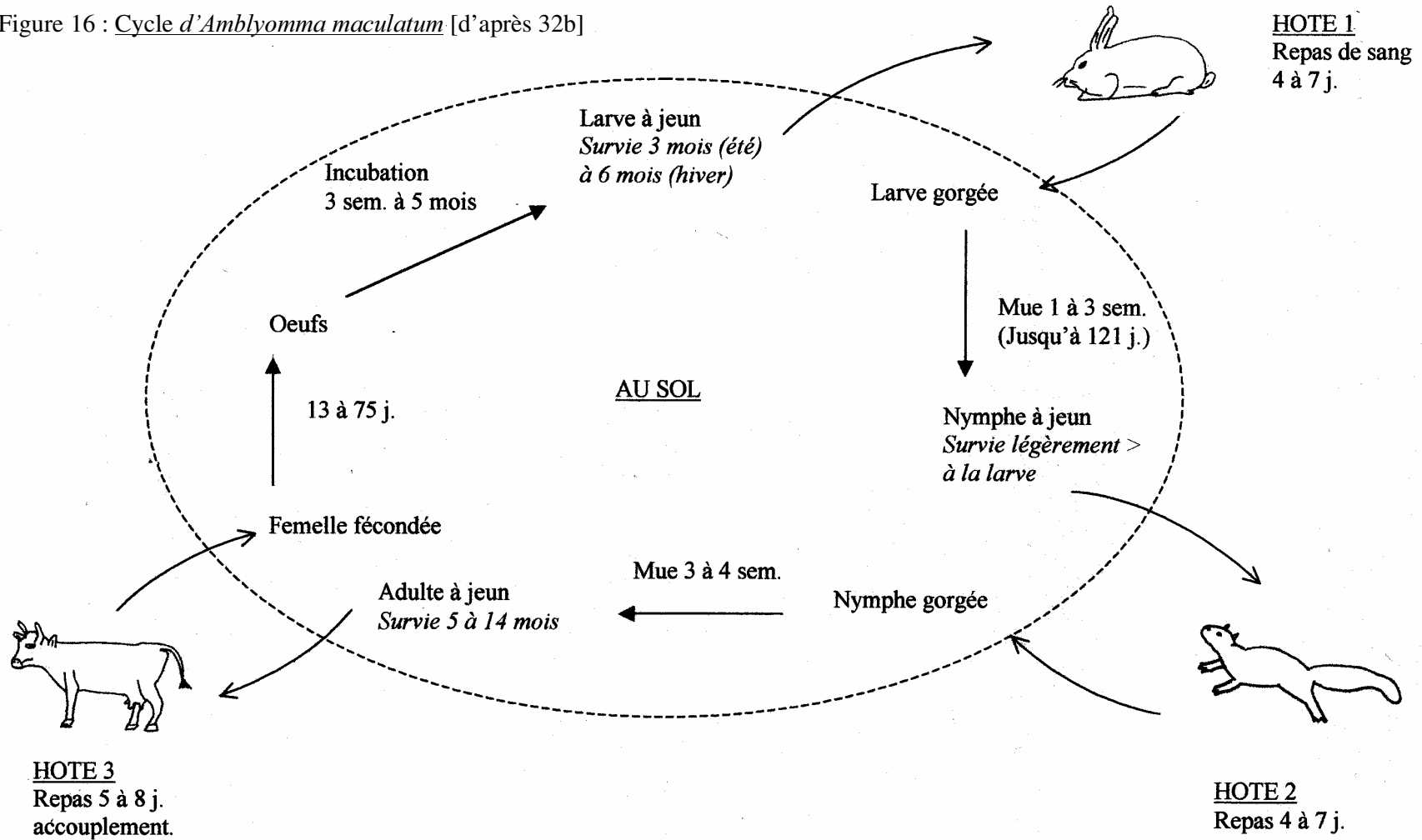
Le cycle d'*Amblyomma maculatum* est un cycle triphase et polytrope.

Après la chute au sol de la femelle adulte gorgée, la ponte des oeufs est immédiate ou différée selon la température extérieure.

Le nombre d'oeufs pondus est en moyenne de 8000.

Les stades nymphal et larvaire résistent mieux à la saison hivernale que l'adulte. L'adulte apparaît en fin de printemps et pendant l'été.

Figure 16 : Cycle d'*Amblyomma maculatum* [d'après 32b]



β. 1. 6. Transmission d'*Hepatozoon americanum*

Il a été démontré que la contamination d'*Amblyomma maculatum*, lors d'un repas sur un chien infecté par *H. americanum*, pouvait se faire au stade larvaire [64] comme au stade nymphal [103-104].

Entre 97 et 100% des adultes d'*A. maculatum* nourris au stade nymphal sur des chiens infectés acquièrent le parasite et développent des ookystes [64-104]. De même, la contamination d'*A. maculatum* au stade larvaire permet l'obtention (à un taux proche de 100%) de nymphes puis d'adultes porteurs d'*H. americanum* [64].

La transmission trans-stadiale d'*H. americanum* au chien est donc possible chez *A. maculatum* [64-104] tout comme cela existe pour *H. canis* chez *Rhipicephalus sanguineus*. Il n'y a pas de transmission transovarienne.

Dans les études de transmission d'*H. americanum* au chien par *A. maculatum*, les tiques adultes contaminées au stade nymphal ont été activées par un repas d'une durée de 4 jours sur un chien, avant d'être inoculées oralement à d'autres chiens. On ne sait toutefois pas aujourd'hui si un tel stimulus est nécessaire ou non à l'activation du pouvoir infectieux d'*H. americanum*.

Quand l'infestation se produit au stade nymphal, les premiers ookystes mûrs sont observés à 42 j. post-inoculation chez la tique adulte nouvellement issue de la mue [103].

Pour une infestation au stade larvaire, ces ookystes mûrs ont été mis en évidence à partir de 33 à 36 j. post-inoculation chez la nymphe, la mue larve → nymphe s'étant produite à 30 jours.

On ne sait pas à l'heure actuelle si la maturation des ookystes d'*H. americanum* est dépendante ou régulée par le processus de mue chez la tique [64].

Des ookystes mûres ont pu être observés chez l'adulte d'*A. maculatum* jusqu'à 15 mois après la mue [103].

Comme pour *H. canis*, la transmission du parasite au chien se fait par ingestion de la tique et non par morsure. Aucune forme parasitaire d'*H. americanum* n'a jamais pu être mise en évidence au niveau des glandes salivaires [103].

β. 2. Autres vecteurs tiques d'*H. americanum*

Nordgren et Craig en 1984 ont réussi à infecter *Rhipicephalus sanguineus* avec ce que l'on présume être, au jour des connaissances actuelles, *H. americanum* et à transmettre le parasite à des chiens par ingestion de tiques ou de broyats de tiques contaminées : sur 120 tiques nourries au stade nymphal sur un chien naturellement infecté, une seule contenait un ookyste et sur 9 chiens soumis à la contamination, 2 seulement ont été confirmés histologiquement comme porteurs du parasite [120]. Aucune étude ultérieure n'ayant réussi à reproduire cette expérience, il semble à l'heure actuelle que l'on puisse affirmer que *R. sanguineus* n'est pas un bon vecteur pour *H. americanum*, pour lequel il est tout au plus un hôte marginal.

Des essais de contamination de tiques des espèces *Dermacentor variabilis* et *Amblyomma americanum*, qui parasitent communément le chien, par repas sur des chiens présentant des gamontes d'*H. americanum* dans le sang circulant se sont à plusieurs reprises révélés infructueux [104].

1. b. Autres modes de transmission naturelle

α. Transmission transplacentaire

La transmission verticale de la maladie (c'est-à-dire de la mère à ses petits), déjà connue chez un *Hepatozoon* parasite de Sciuridés, *H. griseisciuri* [44], a été observée pour *H. canis* chez le chien.

Murata et al. [116] ont réalisé une étude portant sur 6 portées (29 chiots au total) issues de 3 mères porteuses saines d'*H. canis* (c'est-à-dire sans symptômes cliniques mais présentant de façon continue des gamontes dans le sang périphérique).

Dès leur naissance, les chiots ont été maintenus dans un milieu totalement exempt de tiques. Parmi ces 29 chiots, 23 ont présenté des gamétocytes dans le sang circulant ou des schizontes dans différents organes entre 16 et 60 j. après leur naissance.

Cette transmission verticale pourrait expliquer la présence du parasite chez des animaux très jeunes âgés de 2 semaines à 2 mois [40-66].

Selon toute vraisemblance, le passage du parasite de la mère aux chiots se fait par voie transplacentaire, peut-être par passage de formes schizogoniques comme le suggèrent Murata et al. [116]. Des gamétocytes ont par ailleurs été observés au niveau du placenta chez une chienne, mais une lyse fœtale n'a pas permis de vérifier l'existence d'un éventuel passage transplacentaire [130].

Il n'y a eu à ce jour aucune étude pour évaluer la possibilité de transmission transplacentaire d'*H. americanum*. L'infection a été décrite chez les chiots à peine âgés de 11 semaines. Cependant, l'infection expérimentale montre qu'un cycle schizogonique complet peut se dérouler en à peu près 5 semaines [124].

β. Transmission par ingestion de muscle infecté (carnivorisme)

La transmission d'*H. canis* ou d'*H. americanum* par ingestion de muscle infecté n'a pu être démontrée malgré plusieurs essais d'infestation de chiens par consommation de tissus frais provenant d'animaux sévèrement atteints [120-160].

Ce mode de transmission semble néanmoins plausible notamment chez les Carnivores sauvages. Il a d'ailleurs été démontré chez d'autres espèces d'*Hepatozoon*, notamment des *Hepatozoon* de reptiles, *H. domerguei* et *H. sipedon* [89-150]. Pour ces espèces, on a prouvé l'intervention d'un hôte vertébré paraténique insectivore (crapaud, lézard selon le cas) chez lequel la contamination par l'*Hepatozoon*, suite à l'ingestion d'un arthropode, conduit à la formation de kystes dans divers tissus (notamment le foie et les poumons) qui seront infestants pour le reptile prédateur, hôte intermédiaire vis-à-vis de l'*Hepatozoon*.

D'autre part, de tels kystes ont également été observés chez des Mammifères – par exemple chez l'écureuil gris *Sciuris carolinensis* pour *Hepatozoon griseisciuri* [52] – et, selon certains auteurs, ces stades pourraient exister chez toutes les espèces d'*Hepatozoon* [52-89-149].

La contamination du chien par carnivorisme semble particulièrement plausible dans le cycle d' *H. americanum*. En effet, il est suspecté, au vu du tropisme d'hôte d'*Amblyomma maculatum*, que l'hôte préférentiel d' *H. americanum* ne soit pas le chien mais certains petits

Mammifères, comme des rongeurs. Ces derniers pourraient être des proies contaminantes pour les Carnivores.

2. TRANSMISSION EXPERIMENTALE

2. a. Transmission expérimentale d'*H. canis*

Peu d'études complètes sur la transmission d'*H. canis* ont été réalisées.

Quelques essais de transmission expérimentale du parasite au chien ont été effectués :

- Wenyon a décrit l'infection de 4 chiens, 2 par ingestion de tiques collectées sur des chiens naturellement infectés et 2 par injection sous-cutanée de tiques émulsifiées. Il s'agit du seul cas de contamination expérimentale autre que par voie orale [165].
- Mac Cully et al. ont rapporté la détection d'un unique gamonte dans le sang d'un chiot parmi 3 chiots inoculés 34 j. auparavant par ingestion de tiques adultes nourries au stade nymphal sur un chacal infecté [106].
- Une étude récente a décrit la contamination de 9 chiens sur 12 (75%) par ingestion de tiques adultes infectées. Ces chiens ont été confirmés parasitologiquement positifs par détection du parasite dans le sang ou dans les tissus [13].

Par ailleurs, Baneth et al. ont obtenu des adultes de *Rhipicephalus sanguineus* porteurs d'ookystes d'*H. canis*, par injection percutanée à des nymphes de 1µl de « buffy coat » collecté sur un chien naturellement infecté [13].

Cette méthode pourrait être utile pour infecter un grand nombre de tiques au laboratoire sans avoir à les nourrir sur un chien contaminé.

Après injection percutanée à des nymphes de 1µl de buffy coat provenant du sang d'un chien ayant une parasitémie de 48%, on obtient 66% d'adultes porteurs d'ookystes. Ce résultat est de 41% si la parasitémie du chien est de 4%. Cette technique pourrait être particulièrement intéressante pour les recherches portant sur *H. americanum*, celui-ci induisant typiquement une parasitémie faible, inférieure à 1%.

2. b. Transmission expérimentale d'*H. americanum*

Une étude sur la transmission expérimentale de la souche texane d'*H. canis* concernait probablement *H. americanum* avant que ce parasite ne soit reconnu comme une espèce distincte. Dans cette étude, l'infection a pu être transmise à des chiens par ingestion de tiques de l'espèce *Rhipicephalus sanguineus*, entières ou broyées. D'autres modes de transmission (ingestion de broyat de muscle de chien infecté, injection sous-cutanée de la même préparation, piqûre de tique contaminée) n'ont pas donné de résultats concluants [120].

Plus récemment, la transmission d'*H. americanum* a été facilement réalisée soit par ingestion d'adultes d'*A. maculatum* provenant de nymphes nourries sur un chien infecté [104] soit par ingestion d'ookystes extraits de nymphes ou d'adultes d'*A. maculatum*, infectés au stade larvaire [64].

Il a été démontré qu'une splénectomie ou qu'un état d'immuno-dépression n'était pas nécessaire au développement de l'infection [104].

Par ailleurs, des coyotes ont été contaminés par ingestion de 100 ookystes d'*H. americanum* prélevés sur des adultes d'*A. maculatum* et ont développé des signes cliniques et lésions identiques à ceux observés chez le chien [86].

C. RECEPTIVITE DE L'HOTE

1. ESPECE

La gravité du tableau clinique et l'étendue des lésions varient d'une espèce à l'autre.

Chez les Carnivores sauvages, l'infection par l'*Hepatozoon* semble généralement asymptomatique [45-106-108] alors que chez le chien la maladie peut se traduire par un tableau clinique extrêmement sévère.

Kocan et al. ont néanmoins observé l'apparition de signes cliniques caractéristiques de l'hépatozoonose nord-américaine (y compris les lésions osseuses) chez de jeunes coyotes infectés expérimentalement par *H. americanum* [86].

Chez les Carnivores sauvages toujours, il semblerait que, sur le plan lésionnel, ce soit chez le chacal que l'*Hepatozoon canis* provoque les atteintes les plus sévères [106].

2. RACE

Aucune prédisposition raciale n'est décrite dans la littérature : dans une étude réalisée au Nigeria sur 354 chiens, les taux d'infestation des races locales et exotiques étaient comparables (respectivement 21,4% et 24,6%) [66].

Beaufils et al. ont essentiellement diagnostiqué la maladie chez des chiens de chasse ou de défense au détriment des races de compagnie (95% des cas) mais plus probablement du fait du mode de vie de ces races vivant plutôt à l'extérieur, et donc plus exposées aux tiques, que d'une véritable prédisposition raciale [23-27].

3. SEXE

Il ne semble pas y avoir plus de mâles que de femelles contaminés : dans l'étude d'Ezeokoli et al., 22,6% des mâles étaient infectés contre 20,7% des femelles [66]. La publication de Barton et al. portait sur 7 mâles et 8 femelles [21] et celle de Beaufils et al, sur 17 mâles et 11 femelles [27], cette différence n'étant pas statistiquement significative sur un échantillon de 28 animaux.

4. AGE

Des animaux de tous les âges (6 semaines à 15 ans) peuvent être atteints d'hépatozoonose [1-17-21-27-95].

Ce sont néanmoins les très jeunes animaux (moins de 1 an) et les jeunes adultes (1 à 2 ans) qui semblent les plus touchés. Les chiens de moins de 1 an représentent selon les auteurs entre 39 et 56% des cas [1-17-66]. La classe d'âge 1-2 ans représente, dans certaines études, à peu près 20% des cas [1-17].

Encore plus explicite est peut-être le taux d'infection par tranche d'âge. Chez Ezeokoli et al. [17], c'est la tranche 1-2 ans qui présente le plus fort taux d'infection (36% des chiens de cette tranche sont atteints d'hépatozoonose) alors que chez Mundim et al. [112], c'est chez les chiens de moins de 1 an que la prévalence est la plus forte (59%).

La forte prévalence de la maladie souvent observée chez de jeunes ou très jeunes animaux est sans doute à mettre en relation avec l'immaturité du système immunitaire, les mécanismes immunitaires semblant jouer un rôle important dans le contrôle de l'infection.

D'autres auteurs ont par contre souvent trouvé l'infection chez des chiens plus âgés, (avec une moyenne d'âge de 6-7 ans) [27] ou encore n'ont observé aucune différence liée à l'âge [121].

5. AFFECTIONS INTERCURRENTES

L'hépatozoonose est très fréquemment décrite en association avec d'autres maladies infectieuses ou parasitaires : selon les auteurs, **40 à 50% des chiens atteints d'hépatozoonose présentent également une affection intercurrente** [27-97-106].

C'est en premier lieu avec les autres hémoparasitoses transmises par *R. sanguineus* et *A. maculatum* qu'est souvent associée l'hépatozoonose.

- babésiose [70-106-121-122]
- fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses, plus anecdotiquement [97]
- et surtout ehrlichiose [24-28-60-66-70-71-97-121-132-135].

Des cas de présence simultanée d'*Ehrlichia sp.* et d'*H. canis* dans des monocytes ou des granulocytes neutrophiles ont même été rapportés [24-121-132]. Dans la publication de Beaufils et Legroux [24], les morulas d'*Ehrlichia* étaient présentes, chez 2 chiens, dans les polynucléaires neutrophiles (alors que, rappelons-le, les morulas d'*E. canis* sont habituellement observées dans les cellules mononuclées du sang) uniquement lorsque ces derniers contenaient aussi un gamétocyte d'*H. canis*, comme si la présence de ce dernier avait été nécessaire à la pénétration de l'*Ehrlichia*. Selon les auteurs, il s'agissait d'une espèce différente d'*E. canis*, probablement *E. equi*.

O'Dwyer et al. rapportent l'association d'*H. canis* avec d'autres hémoparasites chez 4% des chiens de leur étude [121].

H. canis et *H. americanum* ont également été rapportés en association avec la leishmaniose [25-138], la dirofilariose à *Dirofilaria immitis* [40-97], la toxoplasmose [73], la maladie de Carré [27-97-106] ou encore la parvovirose [8-17] ainsi qu'avec des infections diverses, urinaires ou respiratoires, ou des cancers [23-70-97-106].

Les animaux atteints d'hépatozoonose sont également souvent infestés par des parasites externes (tiques) ou intestinaux [29-70].

Pour tous les auteurs, *H. canis* et *H. americanum* augmentent la sensibilité à d'autres infections ou facilitent leur expression. Inversement et surtout, l'immunodépression causée par une maladie sévère ou par une corticothérapie ou tout simplement l'immaturité du système immunitaire chez les très jeunes animaux, prédisposent à l'infection par les *Hepatozoon* ou permettent l'expression d'une hépatozoonose sub-clinique. [13-26-71].

Mac Cully et al. [106] ont illustré cette synergie en mettant en évidence des lésions nécrotiques plus intenses dans les nœuds lymphatiques des chiens atteints d'une babésiose et d'une hépatozoonose intercurrentes que chez les chiens uniquement infestés par *H. canis*.

Baneth et al. [13] ont observé l'apparition de gamontes d'*H. canis* dans le sang circulant de 2 chiens dans les 48 h suivant l'initialisation d'un traitement immunosuppresseur par de la prednisolone. Chez un 3^{ème} chien, la parasitémie est apparue 10 jours après le début du traitement.

Une autre preuve du rôle d'une immunodépression dans le contrôle de l'infection à *H. canis* est apportée par l'étude d'une portée de chiots Dalmatiens infectés par *H. canis*. Les chiens ayant contracté une parvovirose, maladie profondément immunodépressive, ont présenté une parasitémie significativement plus élevée que leurs frères et sœurs [8].

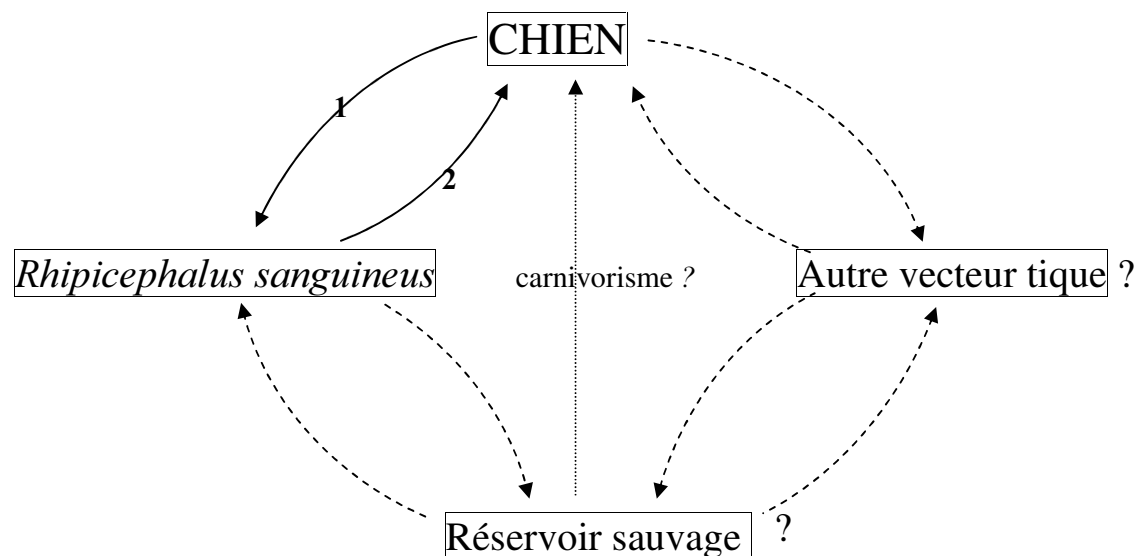
Si l'association entre infection par *H. canis* ou *H. americanum* et affection intercurrente a été souvent observée, on sait mal néanmoins dans quelle mesure le développement de l'hépatozoonose-maladie (c'est-à-dire l'apparition de signes cliniques), dépend de la survenue d'un événement immunosuppresseur. Par exemple, l'hépatozoonose-maladie à *H. americanum* a pu être produite expérimentalement sans immunosuppression [104] et Beaufils et al. [27] ont de même souvent observés des cas d'infections à *H. canis* où le parasite joue un rôle pathogène probable, sans qu'il soit démontré d'affection intercurrente.

CHAPITRE III : EPIDEMIOLOGIE SYNTHETIQUE

A. EPIDEMIOLOGIE SYNTHETIQUE DE L'HEPATOZOONOSE A

Hepatozoon canis.

1. CYCLE EPIDEMIOLOGIQUE



1. Repas de sang
2. Ingestion de la tique

La question des réservoirs sauvages est à l'heure actuelle encore sans réponse : de nombreuses publications décrivent l'infection (généralement asymptomatique) des carnivores

sauvages (en particulier le renard) et certains auteurs ont suggéré que ces animaux pourraient constituer un réservoir pour le chien domestique.

Le vecteur reconnu d'*H. canis* est *Rhipicephalus sanguineus* mais il est possible que d'autres espèces de tiques (*Haemaphysalis* notamment) puissent jouer un rôle dans le cycle du parasite, en particulier dans d'autres régions du monde que l'Europe (Japon, Amérique du Sud...).

Le tropisme d'hôte de cette (ou ces) espèce(s) d'Ixodidés pourrait ouvrir la perspective que d'autres animaux sauvages soient impliqués en tant que réservoir de la maladie.

2. EVOLUTION DANS L'ESPACE

La répartition dans l'espace et l'extension géographique d'*H. canis* sont conditionnées (en l'absence de certitude sur l'existence d'autres vecteurs arthropodes) par la présence nécessaire de *R. sanguineus* (bien que celle-ci soit largement répandue à travers le monde).

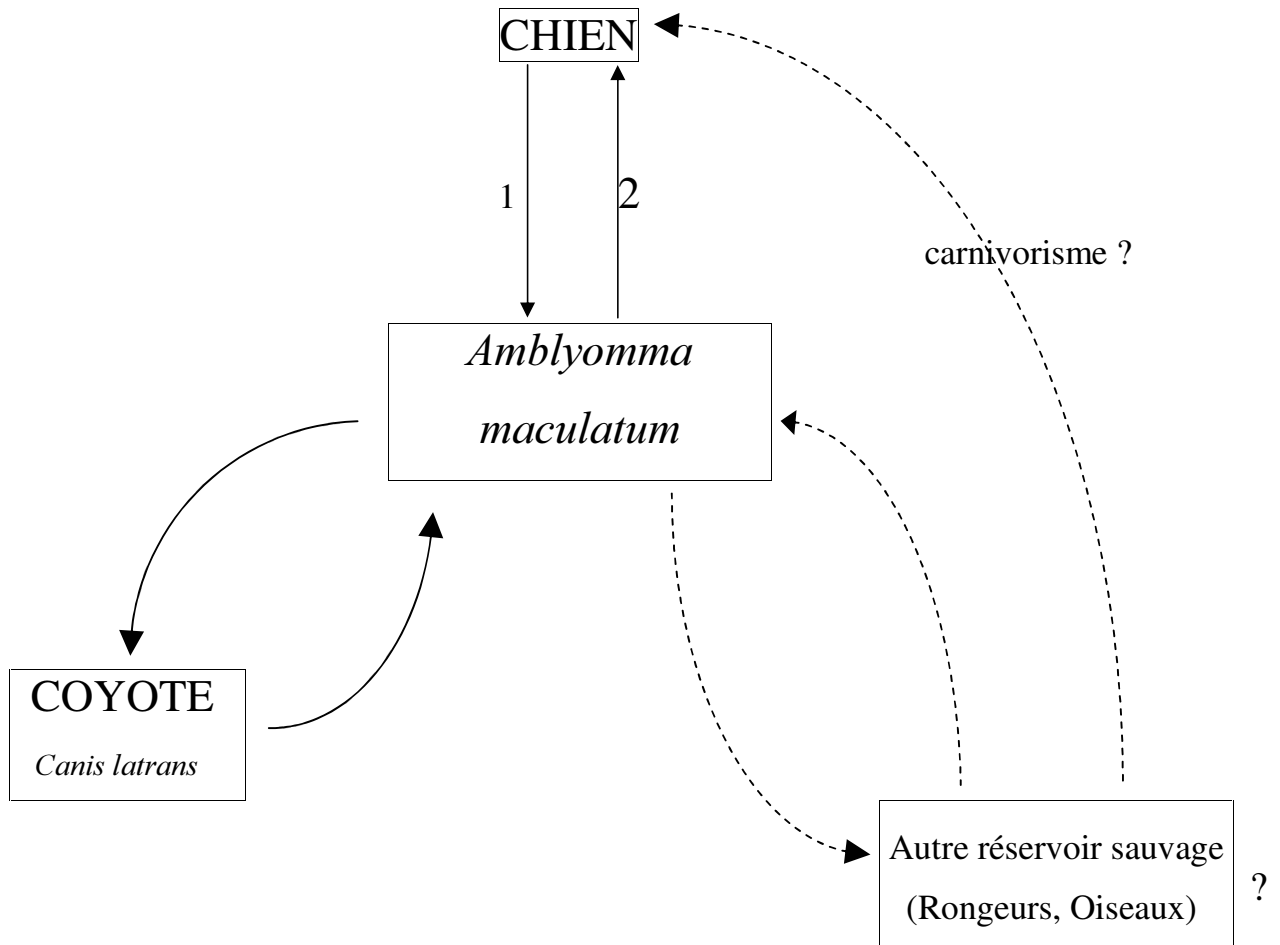
La diffusion de la maladie est également limitée par sa faible contagiosité liée à :

- une parasitémie intermittente, limitant l'infection de la tique
- la nécessité pour le chien d'ingérer le vecteur, facteur limitant de l'infection du chien (en comparaison à la transmission par piqûre d'Arthropode, beaucoup plus aisée).

B. EPIDEMIOLOGIE SYNTHETIQUE DE L'HEPATOZOONOSE A

Hepatozoon americanum

1. CYCLE EPIDEMIOLOGIQUE



1. Repas de sang

2. Ingestion de la tique (comportement de toilettage, prédation d'animaux parasité ?)

L'identification en 1998, du vecteur arthropode d'*H. americanum* a projeté les nombreux hôtes d'*Amblyomma maculatum* comme participants potentiels au cycle épidémiologique du parasite. *A. maculatum* pourrait être un pont épidémiologique naturel entre chiens domestiques et animaux sauvages.

Les chiens domestiques et le coyote pourraient être accidentellement insérés dans un cycle enzootique pré-existant faisant intervenir *A. maculatum* et certains hôtes vertébrés tels des Rongeurs.

2. EVOLUTION DANS L'ESPACE

L'hépatozoonose canine est une maladie émergente aux U.S.A., où elle est décrite depuis 1978, tout d'abord au Texas puis dans divers Etats voisins.

Dans l'état actuel des connaissances sur les possibles vecteurs arthropodes d'*H. americanum* l'hépatozoonose canine nord-américaine semble devoir se confiner géographiquement aux zones où la « Gulf Coast Tick » sévit de façon endémique.

L'émergence de l'hépatozoonose canine aux U.S.A. est très probablement en relation avec l'extension, depuis un vingtaine d'années, de l'aire de distribution géographique d'*Amblyomma maculatum*.

Il semble fondamental d'identifier les facteurs qui ont permis la diffusion et l'établissement d'*A. maculatum* de plus en plus loin à l'intérieur des terres à partir de la zone côtière où elle était primitivement établie.

Comme pour l'hépatozoonose à *H. canis*, la diffusion de l'hépatozoonose nord-américaine est limitée par sa faible contagiosité.

4^{ème} PARTIE :

LA MALADIE

CHAPITRE I : SYMPTOMATOLOGIE CLINIQUE

A. GRAVITE - EVOLUTION DE LA MALADIE

1. HEPATOZOONOSE A *Hepatozoon canis*

H. canis a longtemps été considéré comme non pathogène ou comme pathogène opportuniste, ne s'exprimant que chez des animaux très sévèrement immunodéprimés ou atteints d'une affection intercurrente grave. Ce fut l'opinion de nombreux auteurs dans la première moitié du XX^e siècle [41-80-164] et jusque dans les années 1970 [40-83] même si des cas mortels d'hépatozoonose furent rapportés précocement [106-136].

L'hépatozoonose en Europe , Afrique, Asie et Moyen-Orient est en effet fréquemment asymptomatique et le parasite est souvent découvert fortuitement chez des animaux en bonne santé ou présentés à la consultation pour une autre pathologie [1-27-55-66-106-118].

Pour Beaufils et al. [27] à Sommières (Gard, France), ce sont 12% des chiens infectés qui sont totalement asymptomatiques. Ce chiffre atteint même près de 50% dans d'autres études [1].

Une enquête sérologique en Israël a révélé que 33% des chiens d'un échantillon d'animaux en apparente bonne santé avaient des titres en anticorps anti-*H. canis* positifs au 1 : 32 en immunofluorescence indirecte, ce qui suggère que l'hépatozoonose sub-clinique est courante [14].

D'autre part, il arrive fréquemment (40% des cas pour Beaufils et al., [27]) que l'hépatozoonose soit masquée par une affection intercurrente beaucoup plus grave (ehrlichiose, leishmaniose ...), rendant l'attribution des symptômes délicate.

Néanmoins, depuis une vingtaine d'années, la mise en évidence de symptômes et lésions convergents chez des chiens infectés a permis à plusieurs auteurs de dresser une liste de manifestations cliniques que l'on peut attribuer à *H. canis*, les principales étant :

hyperthermie, abattement, amaigrissement, anorexie, anémie, algies, faiblesse musculaire et troubles locomoteurs [1-27-29-60-66-70].

Une illustration du fait qu'*H. canis* n'est pas bénin et peut avoir des conséquences cliniques a été rapporté par Baneth et Weigler [17]. Ces auteurs ont réalisé une étude comparative entre un groupe de 100 chiens porteurs d'*H. canis* et un groupe témoin de 180 chiens. Ils ont mis en évidence un certain nombre de paramètres cliniques et hématologiques (température rectale, taux de neutrophiles, hémocrite, hémoglobémie, taux de plaquettes) pour lesquels une différence significative entre les 2 lots a pu être prouvée. Parmi ces 100 chiens porteurs d'*H. canis*, 85 étaient en apparente bonne santé et 15 présentaient des signes cliniques sévères.

L'hépatozoonose à *H. canis* est donc une maladie dont le degré et l'évolution sont extrêmement variables : souvent considérée comme une maladie d'évolution bénigne parfois peu apparente, parfois accompagnée de symptômes d'intensité modérée, et n'engageant que rarement le pronostic vital, elle peut également produire des tableaux cliniques sévères voire dramatiques [1-17-29-39-66-74-163].

L'expression de la maladie semble souvent, mais pas nécessairement, favorisée par une immunodépression ou une affection intercurrente.

Quand la maladie s'exprime, son évolution est capricieuse, faisant alterner des périodes de rémission plus ou moins longues, de quelques jours à quelques mois, voire plusieurs années avec des périodes de rechute plus ou moins sévères. Dans certains cas, il est possible que ces « rechutes » soient liées à une réinfection plutôt qu'à une exacerbation de l'infection initiale.

L'issue de la maladie est variable et imprévisible et va de la guérison spontanée à la mort naturelle ou à l'euthanasie.

2. CAS DE L'HEPATOZOONOSE NORD-AMERICAINE A *Hepatozoon americanum*

Aux U.S.A., l'hépatozoonose se caractérise par un tableau clinique beaucoup plus dramatique qu'ailleurs dans le monde. Le portage asymptomatique semble beaucoup moins fréquent et la présence du parasite semble provoquer dans la majorité des cas des symptômes assez sévères,

avec hyperthermie importante et algies intenses presque systématiques, atrophie musculaire, troubles locomoteurs pouvant aller jusqu'à l'état grabataire et une évolution souvent fatale [21-49-97-125].

Comme pour l'hépatozoonose à *H. canis*, la maladie évolue sur un mode chronique avec alternance de phases de rémission plus ou moins longues (en moyenne 6,1 +/- 0,6 mois [27]) et de phases de rechute.

L'évolution de la maladie est souvent fatale soit par mort naturelle (après, dans certains cas, une évolution vers l'insuffisance rénale [21-97]) soit par euthanasie imposée par la sévérité des symptômes. Barton et al. rapportent 9 décès (dont 3 naturels et 6 euthanasies) et 5 animaux en vie entre 3 et 24 mois après le diagnostic, sur 15 cas d'hépatozoonose (1 chien a été perdu de vue) [21].

Sur les 22 cas d'hépatozoonose décrits par Macintire et al. [97], 13 sont décédés (7 euthanasies et 6 morts naturelles), 3 ont été perdus de vue et 6 sont encore en vie entre 1 et 4 ans après le diagnostic. Parmi ces 6 chiens, 3 sont exempts de signes cliniques et 3 présentent une hépatozoonose chronique avec alternance de rechutes et de rémissions.

Dans certains cas, l'évolution peut se faire de manière suraiguë et entraîner la mort en quelques jours à quelques semaines [21-68] mais le décès peut également se produire lors d'une phase de rechute (ou lors d'une réinfection ?) survenant après plusieurs mois de rémission [21].

Des cas d'évolution vers une forme asymptomatique, sans rechute observée à 24 mois après le diagnostic, sont aussi rapportés, et ce malgré, dans certains cas, une phase d'expression clinique initiale extrêmement sévère [21-49-97].

3. RELATION PARASITEMIE/INTENSITE DES SYMPTOMES

Certains auteurs ont observé une association entre la sévérité de la maladie et le taux de leucocytes parasités [1-11-17].

Dans une étude rétrospective portant sur 100 cas, Baneth et Weigler [17] ont observé que les 15 chiens ayant une parasitémie élevée (> 800 gamétocytes d'*H. canis*/ μ l de sang) présentaient des signes cliniques et hématologiques plus graves et des lésions plus sévères comparé aux 85 chiens présentant une parasitémie basse.

D'autres auteurs n'ont, à l'inverse, pas mis en évidence de corrélation entre le développement de symptômes graves et la présence de gamétocytes en grand nombre dans le sang circulant [27-39]. Beaufils et al. [27] ont, par exemple, observé le passage du taux de leucocytes parasités de 1% à 50%, en moins de 18 jours, chez une chienne dont l'état général est toujours resté excellent. A l'inverse, certains chiens ont présenté, pendant plusieurs mois, des signes très préoccupants (ayant conduit à l'euthanasie dans 1 cas) avec des parasitémies extrêmement basses.

Aux U.S.A., par ailleurs, le taux de gamétocytes d'*H. americanum* dans les leucocytes est le plus souvent extrêmement bas ($< 0,1\%$) alors que la maladie se caractérise par un tableau clinique sévère.

B. TABLEAU CLINIQUE

H. canis et *H. americanum* produisent, avec une fréquence et une intensité variables, des symptômes similaires que nous allons présenter conjointement.

Le délai d'incubation de la maladie n'est pas connu pour l'hépatozoonose à *H. canis*, qui semble pouvoir évoluer sur un mode sub-clinique pendant plusieurs semaines ou mois avant de provoquer l'apparition d'éventuels symptômes.

Des essais d'infection expérimentale réalisés pour *H. americanum* ont montré l'apparition, dans quelques cas, d'une diarrhée hémorragique 1 jour après inoculation [120] et d'une hyperthermie avec leucocytose entre 3 et 4-5 semaines après le contact infestant [120-124]. Myasthénie, douleurs, écoulement oculaire apparaissent peu de temps après [124].

La symptomatologie de la maladie est variée et souvent peu spécifique.

1. HYPERTHERMIE

Composante quasi systématique du tableau clinique aux U.S.A. [21-97], l'hyperthermie est moins constante en Europe et dans le reste du monde (à peu près 1 cas sur 2 [21-97]).

Cette hyperthermie est le plus souvent intermittente, allant et venant selon l'intensité des autres symptômes et la gravité du tableau clinique.

2. ABATTEMENT-FATIGABILITE

L'abattement est un signe classiquement rapporté [1-17-29] mais peu spécifique

La fatigabilité est elle plus inconstante (1 cas sur 4 d'après [29]) mais évocatrice : le chien semble normal au repos mais paraît las après 1 ou 2h de chasse.

3. ANOREXIE-PERTE DE POIDS

L'anorexie est un signe fréquemment observé [1-17-21-29] même si, dans un certain nombre de cas, l'appétit est conservé malgré un tableau clinique ailleurs sévère.

L'hépatozoonose est également fréquemment cachectisante, la perte de poids observée pouvant aller d'un amaigrissement modéré à la cachexie chronique ou à l'émaciation extrême. Lorsque l'évolution s'étend sur plusieurs mois, le chien peut alterner pertes de poids et retours à la normale [1-17-97].

Une atrophie musculaire généralisée a été observée chez 14 chiens sur 22 (64%) par Macintire et al. [97]. Par ailleurs, toujours dans l'étude de ces auteurs, il est intéressant de noter que seuls 23% des chiens étaient anorexiques alors que 82% présentaient une perte de poids, ce qui indique que, dans certains cas, l'on peut observer un amaigrissement malgré un appétit conservé. Cette perte de poids est alors sans doute liée à une augmentation des besoins caloriques due à un état inflammatoire chronique.

4. PROBLEMES LOCOMOTEURS

Assez évocateurs d'une hépatozoonose, ces problèmes locomoteurs semblent plus fréquents et plus marqués dans le tableau clinique de l'hépatozoonose nord-américaine : ils représentent 86% des cas pour Barton et al. [21] mais seulement 38% des cas pour Beaufils et al. [29].

Ces problèmes locomoteurs sont généralement liés à des phénomènes hyperalgiques mis en évidence lors de l'examen clinique par des manifestations de douleur à la palpation des membres et du rachis et par une hyperesthésie musculaire secondaire à une myosite, celle-ci étant typique de la maladie aux U.S.A. [29-87-97].

Ces problèmes locomoteurs se manifestent alors le plus souvent par des boiteries aiguës ou chroniques, parfois par une simple raideur ou une répugnance à se mouvoir [27-29-97].

Dans les cas les plus sévères, les chiens sont incapables de se déplacer (position typique aux U.S.A. du chien assis sur son train arrière, la nuque raide et incapable de se relever, dite position de la « voix de son maître ») et hurlent à la moindre manipulation [29-97].

Des états grabataires sont parfois décrits [21-29].

Dans certains cas, ces problèmes locomoteurs sont en relation avec une atrophie musculaire pouvant intéresser tous les muscles (région lombaire, membres ...) et entraîner une faiblesse généralisée. Ils consistent alors en des chutes fréquentes [29-97].

Enfin plus rarement, ces problèmes locomoteurs sont associés à des symptômes mimant des troubles neurologiques : une parésie et une ataxie des membres postérieurs a ainsi été observée dans 5 cas sur 22 par Macintire et al. [97]. Des cas de paralysie ont également été rapportés : paraplégie [40] et tétraplégie avec mise en évidence d'*H. canis* à l'intérieur de neutrophiles sur étalement du liquide céphalo-rachidien [134].

5. JETAGE OCULO-NASAL, PROBLEMES OCULAIRES

Un jetage oculo-nasal, muqueux ou purulent, ou un écoulement oculaire mucopurulent sont fréquemment observés dans l'hépatozoonose Nord Américaine [21-97].

Une épistaxis a été décrite dans certains cas [60-66].

Par ailleurs, des lésions oculaires diverses ont été rapportées : déficit de production lacrymale, lésions rétinienne avec aires hyperréfléctives et hyperpigmentées, œdème papillaire et uvéite [97].

6. TROUBLES DIGESTIFS

Une diarrhée, souvent hémorragique, a été rapportée dans 1 cas sur 2 par Barton et al. [21] mais est beaucoup plus inconstante dans l'expérience d'autres auteurs [29-97-125].

Des vomissements ont parfois été rapportés [1].

7. AUTRES SYMPTOMES

Ont également été rapportés :

- une adénomégalie [1-29]
- une splénomégalie [29]
- une polyuro-polydipsie [21-29]
- une toux, des râles pulmonaires [1-21-29]
- des suppurations cutanées :

Il est intéressant de noter que, pour un certain nombre de cas, les *Hepatozoon* n'ont été mis en évidence que sur calque de pus et non sur frottis sanguin.[29]

- une pâleur des muqueuses [1-21-29-60]
- des troubles de l'hémostase (pétéchies ...) [29-60]

Figure 17 : Fréquence d'observation des symptômes dans l'hépatozoonose à *H. canis* et celle à *H. americanum* selon divers auteurs

Symptômes	% de chiens affectés (N=nombre de chiens pris en compte dans l'étude)			
	<i>Hepatozoon canis</i>		<i>Hepatozoon americanum</i>	
	[29] N=50	[1] N=62	[21] N=15	[97] N=22
Hyperthermie (>39°C)	42%	35.5%	93%	86%
Abattement	60%	29%	-	-
Fatigabilité	24%	-	-	-
Anorexie	46%	56.5%	46%	23%
Amaigrissement	30%	22.6%	40%	82%
Symptômes locomoteurs	38%	6.5%	86%	-
douleurs	30%	-	93%	64%
chutes	8%	-	-	-
Etat grabataire	4%	-	20%	-
Jetage oculo-nasal	10%	19.4%	60%	77%
Symptômes digestifs	4%	-	-	-
vomissements	-	14.5%	-	-
diarrhée	-	-	46%	-
Suppurations cutanées	12%	-	-	-
Adénomégalie	8%	22.6%	-	-
Toux, râles pulmonaires	8%	4.8%	20%	-
Pâleur des muqueuses	8%	24.2%	33%	-
Troubles de l'hémostase	4%	-	-	-
Splénomégalie	2%	-	-	-
Polyuro-polydypsie	2%	-	20%	23%

CHAPITRE II : MODIFICATIONS HEMATOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES

A. MODIFICATIONS HEMATOLOGIQUES

1. ANEMIE

Une anémie, non régénérative, normocytaire, normochrome est assez fréquemment rapportée : selon les auteurs, elle est observée dans 20 à 60% des cas. [1-11-21-27-40-70-96-97].

Baneth et Weigler [17] ont montré , dans une étude portant sur 100 chiens parasités par *H. canis*, que 49% d'entre eux avaient un nombre de globules rouges inférieur aux valeurs usuelles, que 56% avaient une hémoglobinémie inférieure aux valeurs usuelles et 44% un hématocrite faible, ces 3 paramètres étant par ailleurs significativement différents entre le groupe de chiens parasités et le groupe de chiens témoin.

Cette anémie, souvent modérée dans l'hépatozoonose nord-américaine (avec un hématocrite variant de 20 à 35%), peut être plus sévère quand *Hepatozoon canis* est en cause.

Des valeurs d'hématocrite de 7 à 9% (hémoglobinémie : 2,2 à 3,7 g/l ; nombre d'hématies : 1,12 à 1,7.10⁶/μl) ont parfois été rapportées [17-70].

Une anémie régénérative est parfois décrite [17].

2. LEUCOCYTOSE AVEC NEUTROPHILIE

L'observation d'une leucocytose marquée, voire extrême (avec des valeurs situées entre 20000 et 200 000 leucocytes/μl), et liée à une neutrophilie, est un élément typique et quasi-constant du tableau clinique de l'hépatozoonose à *H. americanum* [21-49-65-68-97-125].

Des moyennes de 76 807 globules blancs/ μ l sur 15 chiens [21] et de 85 700 G.B./ μ l sur 22 chiens [97] ont été rapportées.

Cette leucocytose peut atteindre dans certains cas des valeurs extrêmes de l'ordre de 200 000 globules blancs/ μ l [21-68-97].

Dans le cas de l'hépatozoonose à *H. canis*, cette leucocytose est plus inconstante (la plupart des chiens ont un nombre de leucocytes compris dans les valeurs usuelles) et souvent modérée (avec des valeurs situées entre 18 000 et 30 000 G.B./ μ l) [1-27-60-70].

Baneth et Weigler [17] rapportent une moyenne de $23,6 \pm 20,2 \cdot 10^3$ G.B./ μ l, obtenue sur 15 chiens présentant une parasitémie élevée et des signes cliniques, contre une moyenne de $13,9 \pm 9 \cdot 10^3$ G.B./ μ l, calculée chez 85 chiens avec une parasitémie basse et exempts de symptômes.

Une leucocytose marquée, c'est-à-dire supérieure à 30 000 G.B./ μ l, est parfois rapportée [17-27-70] mais est moins commune que dans l'hépatozoonose nord-américaine.

Beaufils et al. [27] et Baneth et al. [11] ont observé des leucocytoses extrêmes respectivement de 86 500 G.B./ μ l et de 97 000 G.B./ μ l.

Dans tous les cas, cette leucocytose est secondaire à une neutrophilie avec un taux de neutrophiles souvent supérieur à 90% [17-21-65].

Cette neutrophilie se caractérise :

- soit par une prédominance de neutrophiles matures (segmentés) [97].
- soit par une déviation à gauche de la courbe d'Arneth, c'est-à-dire par une augmentation du nombre de neutrophiles jeunes non segmentés [11-17-21-97]. Des valeurs de 7300 à 9720 neutrophiles non segmentés/ μ l ont été rapportées (norme : 0 à 300 neutrophiles non segmentés/ μ l).

L'origine de cette neutrophilie est probablement multifactorielle et pourrait être expliquée d'une part par l'augmentation de la durée de vie des neutrophiles circulants (observée dans les inflammations chroniques ou lors d'une corticothérapie prolongée), peut-être en liaison avec la présence des gamétocytes dans les neutrophiles et/ou par une forte demande tissulaire en neutrophiles entraînant une production et une mise en circulation accrue [48].

3. AUTRES MODIFICATIONS HEMATOLOGIQUES

Une monocytose est assez fréquemment observée aussi bien pour l'hépatozoonose à *H. americanum* que pour celle à *H. canis* [7-26-40-60-70].

Barton et al. [21] rapportent des valeurs comprises entre 1 838 et 22 077 monocytes/ μ l (norme : 150 à 1 350 M/ μ l) pour les 15 chiens de leur étude.

Une éosinophilie, plus inconstante, est parfois décrite [7-26-40-60-70].

Une lymphocytose modérée [21] ou à l'inverse une lymphopénie [70] ont également été rapportées.

Des cas de thrombopénies ont été rapportés pour l'hépatozoonose à *H. canis*, en association ou non avec une ehrlichiose intercurrente [11-39-60]. Baneth et Weigler [17] ont montré une diminution des plaquettes chez 37% des chiens porteurs d'*H. canis*.

Le taux de plaquettes est le plus souvent normal à augmenté dans le tableau clinique de l'hépatozoonose nord-américaine [97]. Une thrombopénie, le plus souvent modérée, est rarement décrite sauf si l'hépatozoonose est associée à une ehrlichiose, une babébiose, ou une fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses [95-97].

B. MODIFICATIONS BIOCHIMIQUES

1. PHOSPHATASES ALCALINES

On observe dans la plupart des cas une augmentation, le plus souvent modérée, des phosphatases alcalines.

Cette augmentation est un élément classique du tableau clinique de l'hépatozoonose nord-américaine et a été rapportée par de nombreux auteurs [21-68-96-97-125].

Les valeurs des phosphatases alcalines chez les chiens malades se situent entre 99 et 870 U.I./l (norme : 10 à 82 U.I./l) [21].

Une élévation des phosphatases alcalines est également décrite, bien que de façon moins constante, pour l'hépatozoonose à *H. canis* [11-17-27-70].

Cette augmentation des phosphatases alcalines est à mettre en relation avec une augmentation de l'activité ostéoblastique, se traduisant par les signes typiques de prolifération périostée observés aux U.S.A., ou, dans le cas de l'hépatozoonose à *H. canis*, avec des lésions hépatobiliaires.

2. CREATINE PHOSPHO-KINASES

Une augmentation modérée des C.P.K. (valeurs de 110 à 200 U.I./l, norme = 13 à 100 U.I./l) est parfois rapportée en liaison avec l'infection à *H. canis* [11-17-70], cette augmentation étant probablement secondaire au décubitus observé dans certains cas.

Les C.P.K. sont dans la majorité des cas normales, dans l'hépatozoonose à *H. americanum*, malgré les liaisons de myosite couramment observées. Une augmentation des C.P.K. a été observée dans 1 cas/22 pour Macintire et al. [97] et dans 1 cas/6 pour Barton et al. [21].

3. GLYCEMIE

La glycémie est le plus souvent basse, dans l'expérience des auteurs américains, avec des valeurs comprises entre 0,4 et 0,6 g/l, voire moins [21-68-97-159].

Cette diminution de la glycémie est en réalité un artefact dû à la consommation du glucose par les très nombreux leucocytes avant centrifugation du sang.

Un prélèvement sanguin réalisé sur fluorure de sodium (bloquant le métabolisme cellulaire du glucose) permet l'obtention de valeurs normales de la glycémie [21-97].

4. UREMIE

Des valeurs basses de l'urémie (< 0,1 g/l) sont fréquemment rapportées [21-97-159].

Cette diminution pourrait s'expliquer soit par une diminution de l'apport protéique, en relation avec l'anorexie, soit par un désordre dans le métabolisme protéique (secondaire à une

production importante des protéines de l'inflammation) et entraînant une diminution de la synthèse de l'urée.

5. ALBUMINEMIE

Une hypoalbuminémie légère (avec des valeurs comprises entre 12 et 23 g/l, norme : 23 à 40g/l) est un élément fréquent dans l'hépatozoonose [11-17-21-68-70-97-125]. Elle a été observée dans 77% des cas par Macintire et al. [96].

Cette hypoalbuminémie peut être due à l'insuffisance d'apport protéique (secondaire à l'anorexie), au caractère inflammatoire chronique de la maladie ou à une fuite urinaire (secondaire à une lésion rénale).

Remarque : bien que hypoglycémie, hypalbuminémie et urée basse soient souvent associées avec une insuffisance hépatique, le dosage sérique des acides biliaires (avant et après repas) révèle habituellement des valeurs normales ou modérément élevées [95].

6. PROTEINES TOTALES SERIQUES

Les protéines totales sont parfois légèrement augmentées : de 76 à 102 g/l [11-17-21-97-159].

A l'électrophorèse des protéines sériques, l'hyperglobulinémie se marque par une augmentation des α_2 , β et χ globulines, compatible avec l'état inflammatoire de la maladie [11-159].

7. PHOSPHATEMIE - CALCEMIE

Une hyperphosphatémie a été parfois rapportée [21-97] ainsi que, plus rarement, une calcémie corrigée diminuée [97].

8. PROTEINURIE

Une protéinurie modérée à sévère, avec une augmentation du ratio Protéine Urinaire/Créatine Urinaire, est parfois observée [21-87-97-125]. Cette fuite urinaire de protéines est en relation avec une glomérulonéphrite ou une amyloïdose rénale.

CHAPITRE III : SIGNES RADIOLOGIQUES

Des signes radiologiques de **prolifération périostée** sont un élément spécifique et fréquemment rapporté du tableau clinique de l'hépatozoonose à *H. americanum*.

Ces modifications radiologiques n'ont par contre jamais été observées pour l'hépatozoonose à *H. canis*, y compris chez des animaux présentant des signes locomoteurs sévères, à l'exception d'un cas au Japon où des signes de néoformations osseuses périostées sur les radius, ulna, ilium et fémur ont été observés transitoirement chez un chien porteur asymptomatique d'*H. canis* [119].

Aux U.S.A., ces réactions périostées sont fréquemment décrites chez les chiens infectés par *H. americanum* : 10 chiens sur 15 dans l'étude de Barton et al. [21], 2 chiens/3 dans celle de Craig et al. [49], 3 sur 4 d'après Panciera et al. [125] et 18 chiens/21 selon Macintire et al. [97] présentent des lésions radiologiquement visibles.

L'autopsie de 6 animaux (4 chiens et 2 coyotes) infectés expérimentalement par *H. americanum* a montré, chez chacun d'entre eux, l'existence de lésions ostéoprolifératives, les premières étant apparues 32 jours après inoculation orale. Dans la même étude, sur 8 chiens naturellement infectés par *H. americanum*, 7 ont présenté des lésions périostées ostéoprolifératives lors de l'autopsie [127].

Radiologiquement, ces réactions ostéoprolifératives ont été observées sur de nombreux os du squelette : humérus, radius, ulna, fémur, tibia, fibula, ilium, ischium, scapula, vertèbres, et plus rarement côtes et crâne (mandibules, maxillaires, bulle tympanique, orbite, zygomatique) [21-49-97-125-127].

Les lésions affectent le plus fréquemment et le plus sévèrement la diaphyse des os longs appendiculaires les plus proximaux et sont le plus souvent bilatérales.

Les os plats ou irréguliers sont également souvent touchés.

Les os appendiculaires les plus distaux (métacarpes, métatarses, phalanges) sont habituellement préservés.

Ces lésions prolifératives sont d'intensité variable (de très modérées à dramatiques) et peuvent se présenter sur la radio comme un épaississement de structure lisse, stratifiée, en peau d'oignon ou bien prendre un aspect beaucoup plus irrégulier et envahissant avec parfois une augmentation de la densité intra-médullaire en regard de la lésion [21].

Ces images sont observées sur des animaux de tous âges [97-125-127]. Elles ne sont pas en relation avec la durée de la maladie : elles ont été décrites chez des animaux malades depuis 3 semaines seulement, et sont absentes chez des animaux présentant des symptômes depuis 10 mois [21].

Pendant l'évolution de la maladie, certaines exostoses peuvent complètement disparaître tandis que de nouvelles apparaissent ailleurs [21-49].

Certains auteurs ont suggéré que cette ostéoprolifération pouvait être une réponse locale à la sévère myosite induite par *H. americanum* et affectant les muscles adjacents aux os atteints [48].

La distribution symétrique et disséminée des lésions serait, selon d'autres, plus logiquement attribuable à une stimulation du périoste par des facteurs hormonaux plutôt que locaux [127].

CHAPITRE IV : LESIONS

A. LESIONS MACROSCOPIQUES

1. LESIONS MACROSCOPIQUES COMMUNES A L'INFECTION PAR *Hepatozoon canis* ET A L'INFECTION PAR *Hepatozoon americanum*

La plupart de ces lésions ne sont pas caractéristiques [21-26-129] :

- cachexie
- adénomégalie
- congestion de divers organes : poumons, muqueuse gastrique, rate...
- splénomégalie ; hépatomégalie
- atrophie musculaire
- présence de foyers nécrotiques punctiformes clairs ou teintés, de 1 à 2 mm de diamètre, disséminés sur la surface de divers organes (foie, rate, muscles...)
- atrophie musculaire
- thrombo-embolies pulmonaires ou gastro-intestinales.

2. LESIONS MACROSCOPIQUES SPECIFIQUES A L'INFECTION PAR *Hepatozoon americanum* : LESIONS D'OSTEOPROLIFERATION PERIOSTEE

Les images radiologiques d'ostéoprolifération périostée, classiquement observées dans l'hépatozoonose nord-américaine, se traduisent à l'autopsie par la présence d'exostoses formant un épaississement diffus, irrégulier et d'aspect rugueux à la surface de certains os [21-127].

Sur des sections transversales, on observe des plaques d'os spongieux d'épaisseur variable, déposées concentriquement ou de façon excentrée par rapport à l'axe osseux . Ces plaques

osseuses forment des « pseudo-corticales » plus ou moins épaisses et parallèles à la corticale initiale.

Après infestation expérimentale de chiens, les toutes premières lésions périostées sont observées au bout de 32 j. [127].

Ces lésions ostéoprolifératives sont habituellement disséminées sur le squelette et sont le plus souvent bilatérales.

Le squelette appendiculaire semble plus fréquemment, plus précocement et plus sévèrement atteint que le squelette axial, même si, dans les cas les plus sévères, le crâne et la colonne vertébrale peuvent être largement affectés [127].

Ces exostoses sont préférentiellement observées au niveau de la diaphyse des os longs appendiculaires les plus proximaux, les métaphyses étant habituellement préservées :

fémur, humérus	+++	(surtout 1/3 distal)
tibia, fibula	++	(surtout 2/3 proximaux)
radius, ulna	++	(surtout 2/3 proximaux)

Les os plats et irréguliers sont également fréquemment touchés :

scapula	++	(portion proximale de l'épine scapulaire, col, fosses infra et supra-épineuses)
coxaal	++	(corps de l'ilium dorso-latéral, ischium dorsal)

Les métacarpes, métatarses et phalanges sont rarement atteints.

Les vertèbres lombaires, thoraciques et cervicales peuvent être touchées, essentiellement au niveau du processus épineux dorsal et de l'arc vertébral.

Les côtes sont plus rarement le siège de telles lésions.

Sur le crâne, ce sont essentiellement les os maxillaires, mandibulaires, zygomatiques et la partie rostrale du pourtour orbitaire qui sont atteints.

B. LESIONS MICROSCOPIQUES

1. LESIONS MICROSCOPIQUES DUES A *Hepatozoon canis*

1.a. Mise en évidence de stades schizogoniques d'*H. canis*

Les schizontes d'*H. canis*, en forme caractéristique dite en « rayon de roue », peuvent être mis en évidence à différents stades de leur développement dans de très nombreux organes : rate, foie, nœuds lymphatiques, moelle osseuse, poumons, reins et plus rarement pancréas, plèvre, cerveau et méninges [17-75-106].

Ni la présence du parasite dans les muscles squelettiques, ni l'existence de kystes « en peau d'oignon » typiques de la maladie aux Etats-Unis, n'ont jamais été observés pour l'hépatozoonose à *H. canis*.

1.b. Lésions histopathologiques

En relation (ou non) avec ces schizontes, des lésions modérées à très sévères, selon les cas, ont été rencontrées dans de nombreux organes : il s'agit essentiellement de lésions de nécrose et d'infiltration par des neutrophiles et macrophages [11-17-75-106-129].

Les organes les plus fréquemment atteints sont :

- le foie : hépatite modérée chronique avec aires d'inflammation multifocales (notamment périportales) et foyers nécrotiques.
- la rate et les nœuds lymphatiques : nécrose péri et centro-folliculaire modérée à sévère et infiltrat de cellules inflammatoires.
- les poumons : pneumonie intersticielle modérée à sévère avec granulomes et zones de nécrose multifocales.

- les reins : néphrite intersticielle avec zones de nécrose multifocales ; glomérulonéphrite.
- le pancréas, la plèvre : zones nécrotiques focalisées.

On observe en outre :

- au niveau de la moelle osseuse : une hyperplasie de la lignée granulocytaire avec augmentation du ratio myéloïde/érythroïde.
 - au niveau des nœuds lymphatiques : une hyperplasie lymphoïde.
- [106-129].

2. LESIONS MICROSCOPIQUES DUES A *Hepatozoon americanum*

2. a. Mise en évidence de stades schizogoniques d'*H. americanum*

Les kystes « en peau d'oignon », typiques de l'hépatozoonose nord-américaine, peuvent être observés essentiellement dans les muscles squelettiques et le muscle cardiaque, et plus rarement le pancréas, la rate, les nœuds lymphatiques, le foie, les poumons, le tissu adipeux mésentérique et rétropéritonéal, les muscles lisses intestinaux, la langue, les muscles de l'œil...

Ces kystes n'ont jamais été décrits ailleurs qu'aux U.S.A..

Ce sont des structures rondes à ovales, de 80 à 500 μ de diamètre, composées d'une cellule à l'intérieur de laquelle peut parfois être observé (vraisemblablement selon le plan de coupe) un stade schizogonique d'*H. americanum*, cette cellule étant entourée par de fines membranes basophiles disposées de façon concentrique et donnant un aspect caractéristique dit « en peau d'oignon » [21-48-56-123-124-160].

Les schizontes en forme de rayon de roue, typiquement décrits dans différents organes parenchymateux des chiens infectés par *H. canis* en Europe, Afrique, Asie, Moyen-Orient, n'ont jamais été observés aux U.S.A..

2. b. Lésions histopathologiques

α. Lésions musculaires

Les kystes en peau d'oignon ne sont en principe associés à aucune réaction inflammatoire.

En revanche, une réponse pyogranulomateuse intense, liée à la rupture des kystes et à la libération des schizozoïtes, est communément observée.

Elle se traduit par la présence de pyogranulomes multifocaux consistant en une accumulation importante de macrophages et de neutrophiles (avec occasionnellement quelques éosinophiles), dont beaucoup contiennent un schizozoïte.

Une myosite avec atrophie musculaire, dégénérescence myofibrillaire, nécrose et infiltrat de cellules inflammatoires entre les fibres musculaires et le long des fascias est fréquemment décrite [21-48-97-123-124-125].

β. Lésions osseuses

Le développement des lésions ostéoprolifératives périostées a été microscopiquement étudié chez des chiens infectés expérimentalement [127].

On observe une hypertrophie et une hyperplasie des cellules-souches osseuses périostées qui se différencient en ostéoblastes. Ces ostéoblastes sécrètent l'ostéoïde, composant organique de la matrice extra-cellulaire de l'os, qui en se minéralisant, forme des spicules osseuses orientées primitivement perpendiculairement à la corticale initiale.

Cette couche d'os compact néoformée subit ensuite un remodelage actif, avec augmentation de l'activité ostéoclastique, qui permet la réorientation des spicules parallèlement à la corticale originale.

Dans certains cas, sans doute en relation avec l'alternance de périodes de prolifération et de quiescence, on observe la formation de multiples couches d'os compact, plus ou moins espacées, prenant l'aspect de « pseudo-corticales ».

Très précocement dans le processus d'ostéoprolifération, on observe une hypertrophie endothéliale des vaisseaux du périoste et adjacents, avec parfois des signes d'inflammation et de minéralisation de la paroi vasculaire [21-127].

Barton et al. [21] ont décrit une inflammation pyogranulomateuse du fascia et du périoste adjacent aux réactions ostéoprolifératives. Panciera et al. [127] n'ont par contre pas observé de signes évidents d'inflammation périostée, à part, dans certains cas un œdème touchant le périoste, le tissu conjonctif et les muscles adjacents.

χ. Autres lésions

Des pyogranulomes multifocaux, composés de macrophages et de neutrophiles, similaires à ceux décrits dans les muscles striés sont aussi observés, bien que plus occasionnellement, dans le pancréas, les nœuds lymphatiques, les reins, le foie, les poumons, le tissu conjonctif sous-cutané [95-125-160].

Différents organes présentent en outre des lésions diverses [21-95-97-125-160].

Ce sont :

- les poumons : pneumonie intersticielle avec infiltrat de neutrophiles et de macrophages ; minéralisation des alvéoles pulmonaires
- les reins : néphrite intersticielle lympho-plasmocytaire ; glomérulonéphrite mésangioproliférative
- la rate : nécrose ; minéralisation capsulaire
- les vaisseaux sanguins : dégénérescence fibrinoïde de la paroi vasculaire ; minéralisation et prolifération de l'intima ; vascularite pyogranulomateuse
- la moelle osseuse : hyperplasie granulocytaire avec augmentation du ratio myéloïde/érythroïde
- les nœuds lymphatiques : hyperplasie lymphoïde

Remarque : les lésions hépatiques sont habituellement minimales, sauf en cas d'amyloïdose.

La chronicité de la maladie peut s'accompagner de dépôts de substance amyloïde dans la rate, les nœuds lymphatiques, le foie, les reins, l'intestin grêle ou les artères coronaires [95-97-160].

CHAPITRE V : PATHOGENIE-IMMUNITE

A. PATHOGENIE

1. ROLE PATHOGENE DIRECT DU PARASITE

Très tôt dans l'évolution de la maladie, l'action des sporozoïtes traversant la paroi intestinale semble pouvoir entraîner des troubles digestifs et notamment une diarrhée sanglante, comme cela a parfois été observé dans l'hépatozoonose nord-américaine [21].

La présence des stades schizogoniques du parasite dans différents organes ou tissus s'accompagne de lésions nécrotiques et inflammatoires plus ou moins intenses, en particulier pour *Hepatozoon americanum* pour lequel la libération des schizozoïtes induit des lésions de myosite sévère, vraisemblablement responsable d'une hyperesthésie musculaire et de problèmes locomoteurs marqués [123-124].

La pathogénie de l'apparition des troubles locomoteurs dans l'hépatozoonose à *H. canis* est par contre mal connue.

Les effets pathogènes des gamétocytes dans les granulocytes neutrophiles et les monocytes sont mal définis.

Certains auteurs ont montré que les granulocytes infectés par *H. canis* étaient déficients en myéloperoxydase ce qui, en réduisant les fonctions phagocytaires de ces cellules, pourrait sensibiliser les chiens atteints à des infections systémiques ou bactériennes récurrentes [77].

D'autres auteurs ont également observé la déficience des monocytes et granulocytes infectés par *H. canis* en certaines enzymes spécifiques (alkaline phosphatase, peroxidase naphtol AS-D chloroacétate estérase, α naphtol acétate estérase) ainsi que certaines modifications ultrastructurales, suggérant que les leucocytes infectés perdent certaines de leurs caractéristiques [114].

2. PATHOGENIE DES LESIONS OSSEUSES DUES A *Hepatozoon americanum*

L'hypothèse que les lésions d'ostéoprolifération périostée soient la conséquence de la myosite affectant les muscles adjacents a été primitivement émise [48].

Néanmoins, la distribution symétrique et disséminée sur le squelette des lésions osseuses pourrait plus logiquement être attribuable à une stimulation du périoste par des facteurs hormonaux plutôt que locaux [127].

Il existe en outre de troublantes similarités entre l'aspect macroscopique des lésions osseuses observées d'une part dans l'hépatozoonose nord-américaine et d'autre part dans l'ostéopathie hypertrophique canine et humaine.

Dans les 2 cas, on observe :

- une atteinte préférentielle de la diaphyse des os longs
- une absence de destruction corticale
- une orientation primitive des spicules néoformées perpendiculairement à la corticale initiale
- un remodelage avec altération de l'orientation perpendiculaire des spicules et formation de pseudo-corticales parallèles au cortex initial
- une hypertrophie endothéliale précoce des vaisseaux périostés avec congestion et œdème du périoste et des tissus mous adjacents.

Quelques différences existent néanmoins :

- dans l'hépatozoonose, les lésions osseuses ne sont pas associées à des lésions primaires d'organes viscéraux (poumons, vessie).
- le développement et l'ostéoprolifération est plus rapide dans l'hépatozoonose que dans l'ostéopathie hypertrophique
- dans l'ostéopathie hypertrophique, les lésions affectent préférentiellement les os longs appendiculaires distaux (métacarpes et métatarses) alors que dans l'hépatozoonose elles touchent plutôt les os longs proximaux.

La pathogénie de l'ostéopathie hypertrophique est encore inconnue mais on pense que les lésions osseuses observées dans l'hépatozoonose nord-américaine pourraient procéder d'un

même processus pathologique [127] : un mécanisme initial provoquerait un afflux sanguin et une hyperrétention de fluide dans les membres, qui pourrait être à l'origine d'une stimulation du périoste et d'un dépôt osseux en conséquence.

Le mécanisme initiateur n'est pas connu et pourrait faire intervenir des facteurs hormonaux ou neurologiques complexes (comme une stimulation vagale par une lésion pleurale ou pulmonaire dans le cas de l'ostéopathie hypertrophique).

3. ROLE DU SYSTEME IMMUNITAIRE DANS LE CONTROLE DE LA MALADIE

Les mécanismes immunitaires impliqués dans la pathogénie de l'infection par *Hepatozoon* chez le chien sont à l'heure actuelle mal connus.

Le déclenchement et l'évolution de la maladie semblent dépendre (sans doute dans une moindre mesure pour *H. americanum* que pour *H. canis*) de l'existence de maladies intercurrentes, d'une immunodépression héréditaire ou acquise (corticothérapie), d'une infestation par les tiques ou de l'âge du chien [23-47].

L'apparition ou l'exacerbation d'une parasitémie chez des animaux infectés par *H. canis* ont pu être mises en relation avec l'instauration d'une corticothérapie [17] ou l'existence d'une maladie immunosuppressive comme une parvovirose [8].

L'amyloïdose, les vascularites et les glomérulonéphrites couramment observées chez les chiens malades suggèrent en outre un rôle important des complexes immuns dans l'évolution de la maladie [23-47]. Les lésions d'amyloïdose rénale et de glomérulonéphrites s'accompagnent, dans un certain nombre de cas, de l'apparition d'un syndrome néphrotique, avec hypoalbuminémie et hypercoagulabilité sanguine, entraînant un risque accru de thromboembolies.

B. POUVOIR ANTIGENE D'*Hepatozoon canis* ET D'*Hepatozoon americanum* - CINETIQUE DES ANTICORPS

Une réponse en anticorps circulants a pu être mise en évidence chez les chiens infectés par *H. canis* ou par *H. americanum* mais ces anticorps ne semblent pas protecteurs.

Chez des chiens infectés expérimentalement par *H. canis*, des Ig M ont pu être détectées à partir de 16 à 39 j. post-inoculation et des Ig G à partir de 22 à 43 j. post-inoculation, alors que la présence des gamétocytes sur frottis sanguin n'a pu être observée qu'au bout de 28 à 43 j. [16]. Les titres en Ig M, dosés par immunofluorescence indirecte, sont en général faibles (de 1 : 10 à 1 : 80) tandis que les titres en Ig G varient de 1 : 32 à 1 : 1024 voire 1 : 4096 [16].

La détection d'anticorps sériques anti-*H. canis* avant l'apparition des gamétocytes dans le sang ou en l'absence de parasitémie, suggère que ces anticorps (mis en évidence en immunofluorescence indirecte par réaction avec un support antigénique constitué par des gamétocytes) pourraient être formés contre des stades parasitaires précoces, en développement dans les tissus parenchymateux et ayant des communautés antigéniques avec les gamétocytes [15-16].

Le titre en anticorps décroît probablement avec le temps mais la cinétique exacte n'est pas connue : les chiens ayant une parasitémie détectable au moment du test ont des titres en anticorps plus élevés que des chiens ayant présenté un épisode de parasitémie 4 mois plus tôt [143].

On ne sait pas à l'heure actuelle pendant combien de temps la sérologie reste positive après un premier contact infectieux avec *Hepatozoon*.

Pour *H. americanum*, le délai d'apparition des anticorps après l'infection n'est pas connu avec précision : chez des chiens infectés expérimentalement, des sérologies effectuées pour la première fois 2-3 semaines après inoculation se sont révélées positives. La réalisation de sérologies journalières serait nécessaire pour clarifier la question.

Comme pour *H. canis*, il est probable que, dans les cas où l'infection passe à la chronicité, le taux d'anticorps décroisse avec le temps mais, là non plus, la cinétique n'est pas connue.

CHAPITRE VI : DIAGNOSTIC

A. DIAGNOSTIC CLINIQUE

Il faut penser à l'hépatozoonose en cas de fatigabilité, de maladie cachectisante ou de fièvre récurrente répondant mal aux antibiotiques. Des algies et des problèmes locomoteurs sont également évocateurs.

Une anémie et/ou une leucocytose avec neutrophilie peuvent orienter le diagnostic, ainsi qu'une augmentation des phosphatases alcalines.

Une ponction de moelle osseuse peut révéler une hyperplasie de la lignée granulocytaire et une ponction de nœud lymphatique, une hyperplasie lymphoïde.

Pour l'infection par *Hepatozoon americanum*, l'existence de signes radiologiques de néoproliférations osseuses périostées est un élément très évocateur d'hépatozoonose.

B. DIAGNOSTIC NECROPSIQUE

La présence d'exostoses périostées plus ou moins généralisées, la myosite et la cachexie sont les lésions typiques retrouvées lors de l'autopsie des chiens atteints d'hépatozoonose à *H. americanum*.

La cachexie et la présence de lésions de nécrose et d'infiltration par des granulocytes neutrophiles et des macrophages au niveau du foie, de la rate, des nœuds lymphatiques, des poumons et des reins sont peu spécifiques mais couramment observées à l'autopsie des chiens, lors de l'infection par *H. canis*.

C. MISE EN EVIDENCE DU PARASITE

1. MISE EN EVIDENCE DES GAMETOCYTES SUR FROTTIS SANGUIN OU CALQUE D'ORGANES

Les gamétocytes sont visibles dans les granulocytes neutrophiles et les monocytes sur frottis sanguin ou encore sur calque ou ponction d'organes (moelle osseuse, nœud lymphatique, rate...).

Le délai d'apparition des gamétocytes dans le sang circulant après l'infection est de 28 à 78 jours pour *H. canis* [9-13] et de 28 à 32 jours pour *H. americanum* [124].

Il s'agit d'éléments capsulaires, rectangulaires à angles arrondis, de 8 à 12 μ sur 3 à 6 μ , avec un noyau en position excentrique.

La plupart des colorants classiques (May-Grunwald-Giemsa, coloration de Wright-Giemsa modifiée = colorants rapides type Diff QuickND) permettent la mise en évidence de façon plus ou moins distincte du parasite.

La capsule apparaît claire à légèrement bleutée, avec un noyau compact, plus ou moins foncé.

Ce sont les colorants rapides qui semblent permettre l'obtention du contraste le moins bon entre la cellule-hôte et le parasite, le noyau de celui-ci étant peu ou pas coloré [107]. Ces colorants restent néanmoins largement utilisés en pratique courante.

La coloration de Giemsa colore nettement le noyau du parasite, qui présente néanmoins la même intensité tincturale que celui de la cellule-hôte, et peut donc en cas de superposition être difficilement discernable. La coloration ayant permis l'obtention du meilleur contraste entre le gamétocyte et le leucocyte est une procédure utilisant une coloration à la naphthol-ASD-chloroacétate suivi d'une coloration au Giemsa. Cette technique reste néanmoins longue et fastidieuse pour être utilisée en pratique courante [107].

Il arrive fréquemment que le parasite quitte la cellule-hôte après le prélèvement, laissant une capsule vide non colorée plus difficile à mettre en évidence.

Il faut également noter que les leucocytes parasités sont plus couramment observés sur la queue ou les bords du frottis sanguin [40-107].

Une lecture directe sur frottis peut être suffisante mais il est parfois nécessaire d'examiner plusieurs milliers de leucocytes avant de rencontrer le premier *Hepatozoon* : un enrichissement par leucoconcentration peut alors être intéressant. (Figure 16)

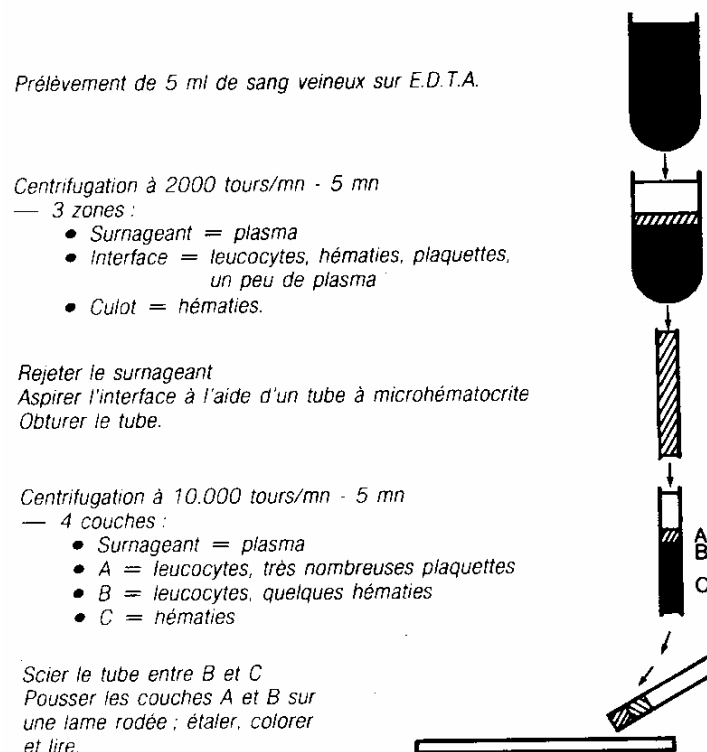


Figure 17

Technique de Leucococentration modifiée d'après CABASSU et HAROTOUNIAN [26]

Aux Etats-Unis le diagnostic hématologique est rendu difficile par la rareté voire l'absence totale des gamétocytes d'*H. americanum* sur frottis sanguin.

Pour *H. americanum*, la parasitémie est en effet inconstante : Barton et al. [21] ont détecté des gamontes chez 4 chiens sur 15, Vincent-Johnson et al. [160] chez 7 chiens sur 35 et Macintire et al. [97] chez 0 chiens sur 22.

Quand des gamétocytes sont visualisés, le taux de leucocytes infectés est en général extrêmement faible, excédant rarement 0,1% [160]. Des taux élevés (de 1 à 60% de leucocytes parasités) ont néanmoins été rapportés [49].

Dans l'infection par *H. canis* (Europe, Asie, Afrique, Moyen-Orient) la détection des gamétocytes sur frottis sanguin, avec ou sans leucoconcentration, est par contre le meilleur moyen de diagnostic.

Le taux de leucocytes parasités est extrêmement variable, de moins de 1% à plus de 90%, ce qui représente un nombre de leucocytes parasités allant de moins de 800/ μ l à près de 80000/ μ l ! [8-11-17-27-60-77-118-119].

Il est néanmoins important de souligner que, le tableau clinique de la maladie étant peu spécifique et le portage asymptomatique fréquent, il convient de s'interroger, à la découverte d'*Hepatozoon canis* sur frottis sanguin ou calque d'organe, sur le rôle du parasite dans le tableau clinique observé.

Il semble nécessaire d'effectuer un bilan aussi complet que possible afin d'éliminer les autres étiologies envisageables et d'observer des symptômes et une évolution (alternance de guérisons et de rechutes, résistance aux antibiotiques...) suffisamment caractéristiques pour incriminer *H. canis*.

La découverte d'un gamétocyte, pour intéressante qu'elle soit, ne doit jamais être considérée d'emblée comme la clé du problème : le diagnostic d'hépatozoonose doit toujours faire l'objet d'un sérieux examen clinique.

2. MISE EN EVIDENCE DES SCHIZONTES D'*Hepatozoon americanum* SUR BIOPSIE MUSCULAIRE

La biopsie musculaire est la méthode de choix pour le diagnostic de l'hépatozoonose nord-américaine.

Elle permet la démonstration du parasite ou de lésions caractéristiques de la présence de celui-ci : kystes en peau d'oignon contenant éventuellement un schizonte d'*H. americanum*, pyogranulomes associés à la libération des schizozoïtes.

Les premières lésions musculaires apparaissent entre 3 et 4,5 semaines après inoculation expérimentale.

Il n'a pas été démontré de différence significative, quant à la densité des lésions, parmi plusieurs muscles squelettiques (biceps fémoral, triceps brachial, muscle temporal, muscle long du dos) et le parasite semble largement disséminé au travers des différents muscles du chien [124].

En pratique, 2 ou 3 prélèvements (2 X 2cm) sont réalisés sur le biceps fémoral, le semi-tendineux ou les muscles épi-axiaux et fixés dans le formol.

Plusieurs échantillons sont ensuite soumis à l'examen histopathologique, après coloration à l'hématoxylin-éosine, afin d'augmenter les chances de détection du parasite [95].

Le muscle cardiaque, obtenu à l'autopsie, peut également présenter des kystes et lésions typiques.

3. MISE EN EVIDENCE DES SCHIZONTES D'*Hepatozoon canis* SUR BIOPSIE OU PONCTION D'ORGANES

Les schizontes caractéristiques, en rayon de roue, d'*H. canis* peuvent être découverts sur des biopsies ou ponction de rate, foie, nœuds lymphatiques, rein, poumon, pancréas, moelle osseuse...

D. DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE

1. MISE EN EVIDENCE DES ANTICORPS ANTI *Hepatozoon canis* PAR LA TECHNIQUE D'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (I.F.I.)

Un test d'Immunofluorescence indirecte (I.F.I.) pour *H.canis* a été mis au point en 1994 en Israël [143].

Ce test permet la détection d'anticorps anti-*H. canis* et utilise les gamétocytes d'*H. canis* comme source d'antigène, le substrat antigénique étant un frottis sanguin réalisé à partir du « buffy coat » d'un chien parasité.

Le sérum canin à tester est mis en contact avec ce substrat antigénique puis les éventuels anticorps anti-*H. canis* sont révélés par des immunoglobines de lapin conjuguées avec la fluorescéine et dirigées contre les Ig G de chien.

Sur le même principe, des immunoglobines de mouton fluorescentes dirigées contre les Ig M de chien peuvent être utilisées pour la détection de cette classe d'anticorps [9].

Les Ig G apparaissent entre 22 à 43 jours post-infection et les Ig M un peu plus précocement, entre 16 et 39 jours post-infection [9].

Des titres en Ig G supérieurs ou égaux à 1 : 32 sont considérés comme positifs, tandis que la positivité pour les Ig M s'établit pour des titres \geq 1 : 10.

Le test semble relativement sensible : 9 chiens sur 10 présentent une parasitémie positive au moment du test et 6 chiens sur 7 sans parasitémie détectable au moment du test (mais ayant présenté un épisode de parasitémie 4 mois auparavant) ont présenté des titres en Ig G positifs [143].

La spécificité du test paraît bonne : sur 12 chiens témoins, tous se sont révélés négatifs [143].

En outre, l'absence de réaction croisée avec *Babesia canis*, *Babesia gibsoni* et *Ehrlichia canis* a été démontrée.

La valeur du titre en anticorps chez les animaux positifs semble dépendre de différents facteurs.

Les chiens présentant des gamétocytes dans le sang circulant au moment du test ont des titres variant de 1 : 64 à 1 : 4 096 tandis que les animaux ayant présenté cet épisode de parasitémie 4 mois plus tôt ont des titres en anticorps plus faibles, de 1 : 32 à 1 : 256 [143].

Des titres de 1 : 64 à 1 : 512 ont néanmoins été trouvés chez des chiens pour lesquels aucun gamétocyte n'avait pu être mis en évidence au moment du test.

Dans l'étude de Baneth et al [14], parmi les chiens ayant des gamétocytes détectables sur frottis sanguin (1% des cas), ceux ayant un taux de parasitémie de 1% ont montré des titres en anticorps de 1 : 32, tandis qu'un taux de parasitémie de 10 % s'accompagnait de titres en anticorps de 1 : 256.

La durée de persistance des anticorps après un premier contact infectieux n'est pas connue : dans l'étude de Baneth et al. [16], 2 chiens ont montré une négativation des titres en Ig M à 33 et 36 jours post-inoculation alors que d'autres travaux ont rapporté une persistance des anticorps sur plusieurs mois [14-16-143].

Cette durée varie probablement selon que le parasite est éliminé, persiste dans l'organisme de façon latente sous forme schizogonique, ou encore, est détectable dans le sang circulant de façon transitoire ou permanente.

Ce test d'immunofluorescence indirecte peut être utilisé :

- pour le diagnostic individuel d'hépatozoonose à *H. canis*. C'est un outil particulièrement intéressant dans les cas d'infection chronique sans parasitémie détectable ou avec une parasitémie très faible rendant la mise en évidence directe du parasite délicate, ou encore pendant la phase précoce de l'infection chez des animaux présentant des signes cliniques évocateurs avant l'apparition des gamétocytes dans le sang circulant.
- dans le cadre d'une enquête sérologique à l'échelle d'une population. Une telle enquête réalisée en Israël par Baneth et al. [14] a révélé 33,1% de chiens séropositifs alors que, sur la base de la mise en évidence des gamétocytes, la prévalence de la maladie était de 1% seulement.

La recherche des Ig G est la technique la plus couramment employée (infections chroniques, études sérologiques), les Ig G atteignant des titres plus élevés que les Ig M et donc plus aisément détectables.

En cas de tentative de diagnostic sérologique très précocement après un contact infectieux, la mise en évidence des Ig G peut être doublée de la recherche des Ig M.

Des tentatives d'utilisation de ce test d'immunofluorescence indirecte, utilisant des gamontes d'*H. canis* comme source d'antigènes, ont été réalisées pour la détection d'anticorps anti-*H. americanum* chez des chiens atteints d'hépatozoonose nord-américaine. Elles se sont soldées par un fort taux de faux négatifs (59%) ou par des sérologies faiblement positives [15-160].

2. MISE EN EVIDENCE DES ANTICORPS ANTI-*Hepatozoon americanum* PAR LA TECHNIQUE E.L.I.S.A.

Un test E.L.I.S.A. (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) indirect a été récemment mis au point aux U.S.A. pour la détection des anticorps anti-*H. americanum* [105].

Des sporozoïtes d'*H. americanum* sont utilisés comme source d'antigène. Ces sporozoïtes, libérés des ookystes par action de bile in vivo (les ookystes ayant été collectés sur *Amblyomma maculatum*) sont traités aux ultrasons puis les antigènes obtenus sont mis en solution, déposés sur un support solide en plastique et mis en contact avec le sérum canin à tester, dilué à 1 : 200.

Les éventuels anticorps présents dans le sérum sont ensuite révélés par un conjugué anti-Ig de chien couplé à une enzyme agissant sur un substrat chromogène.

L'intensité de la coloration (ou densité optique) est proportionnelle à la concentration en anticorps.

Des densités optiques $\geq 0,90$ sont considérées comme positives.

Ce test présente une spécificité de 96% et une sensibilité de 93% et pourrait être à l'avenir développé comme un outil de diagnostic utilisable en routine, éventuellement complété par biopsie musculaire en cas de résultat sérologique négatif malgré des signes cliniques suggestifs.

Le délai d'apparition des anticorps après infection n'est pas connu avec précision. Sur des chiens infectés expérimentalement, des tests E.L.I.S.A. réalisés 2 à 3 semaines après exposition se sont révélés positifs.

La cinétique des anticorps n'est pas connue : on pense que dans des cas d'infection chronique, les anticorps sériques pourraient décroître avec le temps.

3. IMMUNOTRANSFERT OU WESTERN BLOT

Pour compléter la sérologie et mieux caractériser la réponse immune vis à vis des constituants antigéniques d'*H. canis*, une technique d'immunotransfert a été récemment développée.

Contrairement à l'I.F.I. qui fournit une réponse globale, le Western Blot permet en effet de distinguer les différents anticorps en fonction de leur spécificité vis à vis des différents antigènes d'*Hepatozoon*.

Dans un premier temps, des gamontes d'*H. canis* sont extraits de leucocytes infectés par passage dans une chambre à cavitation au nitrogène suivi d'une centrifugation.

Ces gamontes sont ensuite solubilisés dans une solution-tampon puis les antigènes obtenus sont séparés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide.

Un immunotransfert est réalisé avec une dilution du sérum de chien à tester puis les anticorps de ce sérum sont mis en contact avec des immunoglobulines de lapin anti-IgG de chien et révélés par une réaction enzymatique.

Une étude a montré que, parmi plus de 15 antigènes ayant réagi avec les différents sérums testés (3 sérums de chiens infectés naturellement, 3 sérums de chiens infectés expérimentalement), 4 bandes protéiques à 107, 88, 63 et 28 kDa ont été reconnues nettement par tous les sérums examinés et 5 autres bandes à 120, 92, 72, 21 et 17 kDa ont réagi plus faiblement. 5 sérums sur 6 ont en outre réagi avec les bandes 123 et 112 kDa [15].

D'autres auteurs ont démontré une réaction des anticorps de chiens infectés avec les bandes protéiques 250, 107, 88, 63, 37, 32, 30, 28 kDa [10].

La connaissance des différents antigènes d'*H. canis* n'est, on le voit, à l'heure actuelle qu'ébauchée et nécessite d'autres essais d'immunotransferts utilisant des antigènes d'*H. canis* totalement purifiés.

L'immuno-empreinte d'un Western Blot faisant réagir un sérum de chien infecté par *H. americanum* sur un support sensibilisé par des antigènes d'*H. canis* a montré un certain degré de réactions croisées : le sérum anti-*H. americanum* a reconnu intensément les bandes situées à 250, 107, 88 kDa et de façon moins marquée les bandes à 63 et 37 kDa, mais n'a pas réagi avec les bandes 32, 30 et 28 kDa à la différence du sérum anti-*H. canis* [10].

H. americanum et *H. canis* sont, comme l'avait déjà laissé supposer les tentatives d'I.F.I. croisées, proches mais distincts sur le plan antigénique, et induisent un certains nombre de réactions croisées.

Le développement d'outils diagnostiques basés sur la connaissance des constituants antigéniques d'*H. canis* et d'*H. americanum* facilitera à l'avenir l'examen des relations antigéniques possibles entre des *Hepatozoon* provenant de zones géographiques différentes ou parasitant des hôtes vertébrés distincts.

E. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

On tentera d'éliminer les affections suivantes :

- maladies fébriles ou cachectisantes, notamment la leishmaniose et les parasitoses, souvent intercurrentes, transmises par *Rhipicephalus sanguineus* : babébiose, ehrlichiose...
- maladies neurologiques ou locomotrices douloureuses : maladie discale, discospondylite, polyarthrite rhumatoïde...
- maladie de Carré : fièvre, jetage oculo-nasal, râles pulmonaires, parésie...
- les signes radiologiques de l'hépatozoonose nord-américaine doivent être distingués de ceux présents dans une ostéodystrophie hypertrophique, une ostéopathie cranio-mandibulaire, une panostéite, une ostéopathie hypertrophique, une ostéomyélite, un ostéo ou chondrosarcome.

- la neutrophilie pourrait faire penser à une inflammation purulente localisée (abcès, péritonite, pyomètre, pyélonéphrite...) ou à un désordre systémique : maladie auto-immune, mycose systémique, leucémie.
- en histologie, les schizontes doivent être distingués des kystes de *Toxoplasma gondii* ou de *Neospora caninum*.

CHAPITRE VII : TRAITEMENT-PROPHYLAXIE

A. TRAITEMENT

1. TRAITEMENT ETIOLOGIQUE

De très nombreuses molécules ont été essayées avec plus ou moins de succès dans le traitement de l'hépatozoonose.

Les essais thérapeutiques et l'appréciation de la réelle efficacité du traitement sont souvent compliqués par l'évolution capricieuse de la maladie, faite de rémissions spontanées et de rechutes.

- L'oxytétracycline, le chloramphénicol [66] et les dérivés de l'antimoine [18], entre autres, n'ont donné que des résultats nuls ou transitoires.
- Le diminazène acéturate (non commercialisé en France), administré à la dose de 2 mg/kg en intramusculaire, 1 fois par jour, pendant 3 jours, a donné à une occasion une amélioration clinique mais avec persistance de la parasitémie [49]. Des doses de 12 mg/kg ont donné le même résultat [18]. D'autres auteurs ont par contre essayé cette molécule (à des doses de 3,5 mg/kg, I.M., 1 seule injection) sans résultats [11].
- La primaquine phosphate, molécule utilisée dans le traitement de la malaria, a montré, selon certains, une efficacité sur des chiens atteints d'hépatozoonose en Afrique [46].
- L'imidocarb dipropionate (CARBESIA ND^V*) peut être utilisé à la dose de 5 mg/kg, sous-cutanée, en 1 ou 2 injections à 14 jours d'intervalle,

ND^V: spécialité pharmaceutique vétérinaire

éventuellement précédés 30 minutes avant par une injection SC d'atropine (0,04 mg/kg) pour prévenir les effets parasymphaticomimétiques du Carbesia (salivation, vomissements, diarrhée...).

Certains auteurs ont rapporté des résultats spectaculaires sur la parasitémie avec une disparition des gamétocytes dans les 24h suivant l'injection dans 98% des cas (suivie toutefois, dans 1 tiers des cas, d'une rechute parasitémique sous 6 semaines) [122].

D'autres auteurs ont constaté des améliorations ou des guérisons cliniques, mais une efficacité variable quant à la destruction du parasite [11-49].

Elias et Homans [60] ont rapporté des guérisons biologiques et cliniques avec une association d'imidocarb dipropionate (6 mg/kg, SC, 2 fois à 14 j. d'intervalle) et de tétracycline (22 mg/kg, 3 fois/j., 14 j.).

D'autres encore ont obtenu des résultats très inconstant et la plupart du temps décevants [27-66].

L'imidocard dipropionate n'est autorisé aux U.S.A. que depuis peu, ce qui y a freiné les essais cliniques.

- Le toltrazuril, anticoccidien commercialisé sous le nom de BAYCOX ND^V, présente une activité intéressante sur *Hepatozoon erhardovae*, qui parasite le campagnol [88].

Un protocole pour le chien a été décrit par Craig : 5 à 10 mg/kg/j., PO, en 1 ou 2 prises, pendant 5 jours [46].

Un traitement au toltrazuril à 5 mg/kg, éventuellement associé à la clindamycine (ANTIROBE ND^V, DALACINE ND^H*) induit une rémission des signes cliniques en 48 à 72h mais n'élimine pas le parasite et les rechutes sont fréquentes [95-97]. Beaufils a néanmoins obtenu une guérison clinique et hématologique (avec un protocole de 10 mg/kg/j. pendant 10 jours) chez plusieurs chiens atteints d'hépatozoonose sévère mais interprètent ce résultat avec prudence du fait de la possibilité de guérisons cliniques et parasitaires spontanées [23].

Le BAYCOX ND, très peu appétent chez le chien, peut être donné dilué (1/2 Baycox, 1/4 eau, 1/4 propylène glycol).

Le toltrazuril n'est plus autorisé aux Etats-Unis.

ND^H : spécialité pharmaceutique humaine

- L'association de triméthoprim-sulfadiazine (15 mg/kg, 2 fois/j., PO), pyriméthamine (0,25 mg/kg, 1 fois /j., PO) et clindamycine (10 mg/kg, 3 fois/j.,PO), administrés pendant 14 jours, a montré une certaine efficacité dans le traitement de l'hépatozoonose nord-américaine : rémission des signes cliniques en 48h à 72h mais persistance des stades schizogoniques dans les muscles et rechutes dans les 6 mois suivant l'arrêt du traitement [96-97-159].

Malgré la reprise du traitement à chaque rechute, la maladie évolue sur un mode chronique aboutissant dans la majorité des cas à une issue fatale [96].

Cette association de molécules a été utilisée avec succès dans le traitement de la toxoplasmose chez le chien et le chat.

Triméthoprim-sulfadiazine et pyriméthamine ont une action synergique et inhibitrice du métabolisme parasitaire des acides foliques.

Une action suppressive sur la moelle osseuse (avec leucopénie, anémie, thrombopénie...) a parfois été décrite en cas d'utilisation prolongée et requiert la réalisation d'héogrammes réguliers et la supplémentation éventuelle en acide folinique par voie orale.

L'administration orale de clindamycine peut provoquer, notamment à hautes doses comme dans le protocole ici décrit, anorexie, vomissements et diarrhée.

Ce protocole n'a pas été testé chez des chiens atteints d'hépatozoonose à *H. canis*.

Beaufils et al. [29] ont utilisé sans résultats les associations triméthoprim-sulfaméthoxazol (BACTRIM ND^H), sulfadoxine-pyriméthamine (FANSIDAR ND^H) et la clindamycine (ANTIROBE ND^V, DALACINE ND^H).

Le triméthoprim-sulfadiazine à 30 mg/kg, IV, 5 jours a été utilisé avec succès dans un cas d'hépatozoonose en Inde [134].

- L'administration de décoquinate (DECOX 60 ND^V), en prolongement d'un traitement initial au triméthoprim-sulfadiazine/pyriméthamine/clindamycine, permet de prolonger la phase de rémission et le temps de survie des chiens atteints d'hépatozoonose nord-américaine, en diminuant le nombre et l'intensité des rechutes [96].

Le décoquinate est administré à une posologie de 10 à 20 mg/kg, 2 fois/jour, par voie orale, mélangé dans l'alimentation. La durée préconisée du traitement est au minimum de 2 ans.

La plupart des rechutes sont observées dans les 1 à 2 semaines suivant l'arrêt prématuré du traitement par les propriétaires.

Le décoquinate ne semble pas présenter d'effets secondaires chez le chien.

Le décoquinate est un coccidiostatique (coccidiocide à fortes doses), utilisé comme additif médicamenteux alimentaire dans la prévention de la coccidiose des veaux, agneaux, lapins et poulets.

Il se montre également efficace contre *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum*.

L'action supposée du décoquinate sur *H. americanum* réside en une inhibition du développement des schizozoïtes dès leur libération des schizontes matures et donc en un blocage de la répétition des cycles de reproduction asexuée.

Le décoquinate ne possède pas d'activité zoïticide et reste sans effet pour l'amélioration des signes cliniques associés à une rechute ni pour l'élimination des gamétocytes circulants.

En cas de rechute, un traitement de 15 jours, avec l'association triméthoprim-sulfadiazine/pyriméthamine/clindamycine, est préconisé.

2. TRAITEMENT ADJUVANT

Un traitement adjuvant anti-inflammatoire et antalgique peut être mis en place, notamment en cas de phénomènes douloureux importants.

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (A.I.N.S.) semblent devoir être préférés aux corticoïdes dont l'utilisation dans l'hépatozoonose est controversée par certains auteurs, car ils pourraient exacerber les signes cliniques ou augmenter la parasitémie [17-21-120]. Les A.I.N.S. ou les corticoïdes restent néanmoins le plus souvent impuissants à diminuer les douleurs ou la fatigabilité.

Les éventuelles affections intercurrentes devront, bien entendu, être traitées.

B. PROPHYLAXIE

1. SANITAIRE

La seule prévention consiste à lutter contre les tiques sur le chien (bains, colliers, sprays acaricides) et dans l'environnement (entretien des chenils, abords des habitations, cours...).

2. MEDICALE

La prophylaxie médicale est inexistante : on ne dispose d'aucun vaccin ni d'aucune molécule utilisable dans le cadre d'une chimioprévention de l'hépatozoonose.

Toute affection intercurrente, pouvant favoriser ou exacerber l'expression clinique d'une hépatozoonose, devra être traitée.

CHAPITRE VIII : PRONOSTIC

A. HEPATOZOONOSE A *Hepatozoon canis*

En Europe, Asie, Afrique, Moyen-Orient, l'hépatozoonose-maladie, due à *Hepatozoon canis*, n'engage que rarement le pronostic vital de l'animal, même en l'absence de traitement réellement efficace [17-27-29-80b].

Des cas de mortalité sont néanmoins parfois rapportés [17-74] et il convient de toujours émettre un doute quant à l'issue favorable de la maladie, notamment en cas d'affection intercurrente ou de jeune âge de l'animal.

B. HEPATOZOONOSE A *Hepatozoon americanum*

Dans l'hépatozoonose nord-américaine à *Hepatozoon americanum*, le pronostic est beaucoup plus réservé.

Des rémissions spontanées ont été rapportées dans 12 à 20% des cas [21-95-96-97].

Dans la majorité des cas, on observe néanmoins une évolution chronique de la maladie avec alternance de rechutes et de rémissions, induisant une baisse progressive de l'état général. L'état inflammatoire chronique provoque une cachexie progressive, une atrophie musculaire, une glomérulonéphrite ou une amyloïdose rénale évoluant vers un syndrome néphrotique et/ou une insuffisance rénale chronique [96-159].

L'évolution est fatale dans 60 à 80% des cas par mort naturelle ou par euthanasie [21-96]. La durée moyenne de survie (chez les chiens décédés d'hépatozoonose) est de 10 à 12 mois [95-96-159].

La mise au point récente d'un protocole thérapeutique associant un traitement initial de 14 jours à base de triméthoprim-sulfadiazine + pyriméthamine + clindamycine, suivi de l'administration au long cours de décoquinatate, a permis l'obtention d'un allongement de la durée de survie des animaux malades avec une diminution de la fréquence et de l'intensité des rechutes et une amélioration de la qualité de vie [96].

Sur 27 chiens soumis à ce protocole, Macintire et al. [96] ont rapporté 22 animaux en vie 5 ans après l'initiation du traitement, 2 perdus de vue, et 3 chiens décédés dont 2 présentaient une glomérulonéphrite sévère au moment du diagnostic.

Le pronostic semble donc largement amélioré par l'administration de décoquinatate en relais de la tri-thérapie ci-dessus énoncée, à condition que l'initialisation du traitement soit faite relativement précocement dans l'évolution de la maladie et en tout cas avant l'installation de lésions rénales sévères.

CONCLUSION

Largement répandue à travers le monde, l'hépatozoonose canine est causée par 2 espèces distinctes d' *Hepatozoon* : *Hepatozoon canis* en Europe, Asie, Afrique, Moyen-Orient, Amérique du Sud et *H. americanum* aux Etats-Unis.

Retrouvée dans le Sud-Est de la France, elle peut poser au praticien de sérieux problèmes de diagnostic du fait de son expression clinique souvent peu spécifique.

L'hépatozoonose ne doit pas toujours être considérée comme la maladie rare et asymptomatique qui a parfois été décrite. Elle peut au contraire produire des symptômes très sévères et doit apparaître dans le diagnostic différentiel des fièvres, des hyperalgies, des boiteries récurrentes, des anémies, des fortes neutrophilies, etc...

La mise en évidence des gamétocytes à l'intérieur des granulocytes neutrophiles ou des monocytes n'est pas toujours aisée et il convient en cas de suspicion clinique, de se consacrer assez longuement à la recherche du parasite.

Dans la forme Nord-Américaine, la technique diagnostique de choix repose sur la mise en évidence du parasite sur biopsie musculaire.

On ne dispose à l'heure actuelle, d'aucun traitement complètement efficace dans l'élimination du parasite. On peut avoir recours à l'imidocarb dipropionate ou au toltrazuril.

Récemment, l'utilisation d'une association de triméthoprim-sulfadiazine, clindamycine et pyriméthamine, suivie de l'administration au long cours de décoquinat, a donné de bons résultats dans le traitement de l'hépatozoonose Nord-Américaine et mériterait d'être employée dans le cadre de l'hépatozoonose à *H. canis*.

Aux U.S.A., l'hépatozoonose est une maladie en extension (aussi bien au niveau de l'incidence qu'au niveau géographique), et les raisons de cette émergence, probablement liées à la progression du vecteur *A. maculatum*, sont à explorer.

Si la connaissance de la maladie, de ses agents étiologiques et de leurs vecteurs, a beaucoup progressée au cours des 10 dernières années, de nombreuses recherches restent encore à mener, concernant notamment la pathogénie, certains aspects des cycles d'*H. canis* et d'*H. americanum*, l'étendue réelle de la maladie (qui ne sera bien connue qu'avec la diffusion des tests de dépistage sérologique) et surtout la mise au point d'un traitement efficace.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABDULLAHI (S.U.). 1986. Canine hepatozoonosis. In: KIRK (R.W.). Current Veterinary Therapy IX, Small Animal Practice. Philadelphia : W.B. Saunders Company, 1986, section 12, 1099-1100.
2. ABDULLAHI (S.U.), ADEYANJU (J.B.), ESIEVO (K.A.N.), NWOSU (J.E.). 1986. *Hepatozoon canis* a retrospective study of 117 naturally occurring cases in northern Nigeria. *Tropical Veterinarian*, 1986, **4** : 59-66.
3. ALENCAR (N.X.), KOHAYAGAWA (A.), SANTAREM (V.A). 1997. *Hepatozoon canis* of wild carnivores in Brazil. *Veterinary Parasitology*, 1997, **70** : 4, 279-282.
4. ALIU (Y.O.). 1983. Tick-borne disease of domestic animals in Nigeria : current treatment procedures. *Veterinary Bulletin*, 1983, **53** : 3, 233-251.
5. ARNOLD (P.), DEPLAZES (P.), MULLER (A.), KUPPER(J.), LUTZ (H.), GLAUS (T.). 1998. Imported hepatozoonosis in the dog : 3 cases. *Schweizer Archiv fur Tierheilkunde*, 1998, **140** : 7, 287-293.
6. ARRU (E.), PAU (S.), LEONI (A.). 1982. Segnalazioni di *Hepatozoon canis* in Sardegna. *Rivista Parasitologica*, 1982, **43** : 57-62.
7. BAKER (J.L.), CRAIG (T.M.), BARTON (C.C.L.), SCOTT (D.W.). 1988. *Hepatozoon canis* in a dog with oral pyogranulomas and neurological diseases. *Cornell Veterinarian*, 1988, **78** : 2, 179-183.
8. BANETH (G.), AROCH (I.), PRESENTEY (B.). 1997. *Hepatozoon canis* infection in a litter of Dalmatian dogs. *Veterinary Parasitology*, 1997, **70** : 1-3, 201-206.
9. BANETH (G.), AROCH (I.), TAL (N.), HARRUS (S.). 1998. *Hepatozoon* species infection in domestic cats : a retrospective study. *Veterinary Parasitology*, 1998, **79** : 2, 123-133.
10. BANETH (G.), BARTA (J.R.), SHKAP (V.), MARTIN (D.S.), MACINTIRE (D.K.), VINCENT-JOHNSON (N.). 2000. Genetic and antigenic evidence supports the separation of *Hepatozoon canis* and *Hepatozoon americanum* at the species level. *Journal of Clinical Microbiology*, 2000, **38** : 3, 1298-1301.
11. BANETH (G.), HARMELIN (A.), PRESENTEY (B.Z.). 1995. *Hepatozoon canis* infection in two dogs . *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1995, **206** : 12, 1891-1894.
12. BANETH (G.), LAVY (E.), PRESENTEY (B.Z.). 1995. *Hepatozoon* sp. Parasitemia in a domestic cat. *Feline Practice*, 1995, **23** : 10-12.

13. BANETH (G.), SAMISH (M.), ALEKSEEV (E.), AROCH (I.), SHKAP (V.). 2001. Transmission of *Hepatozoon canis* to dogs by naturally fed or percutaneously injected *Rhipicephalus sanguineus* ticks. *Journal of Parasitology*, 2001, **87** : 3, 606-611.
14. BANETH (G.), SHKAP (V.), PRESENTEY (B.Z.), PIPANO (E.). 1996. *Hepatozoon canis* : the prevalence of antibodies and gametocytes in dogs in Israel. *Veterinary Research Communications*, 1996, **20** : 1, 41-46.
15. BANETH (G.), SHKAP (V.), SAMISH (M.), JAFFE (C.L.). 2000. Antigenic analysis of gamonts of *Hepatozoon canis* purified from leucocytes. *Journal of Parasitology*, 2000, **86** : 2, 289-294.
16. BANETH (G.), SHKAP (V.), SAMISH (M.), PIPANO (E.), SAVITSKY (I.). 1998. Antibodies response to *Hepatozoon canis* in experimentally infected dogs. *Veterinary Parasitology*, 1998, **74** : 2-4, 299-305.
17. BANETH (G.), WEIGLER (B.). 1997. Retrospective case-control study of hepatozoonosis in dogs in Israel. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 1997, **11** : 6, 365-370.
18. BANSAL (S.R.), GAUTAM (O.P.). 1982. Chemotherapeutic trials against natural *Hepatozoon canis* infection in dogs. *Haryana Agricultural University Journal of Research*, 1982, **12** : 4, 566-568.
19. BARR (S.C.), BOWDAN (D.D.), PHILIPS (L.G.), BARR (M.C.). 1993. *Tripanosoma manulis*, n.sp. from the Russian Pallas cat *Felis manul*. *Journal of Eukariotic Microbiology*, 1993, **40** : 3, 233-237.
20. BARTA (J.R.). 1989. Phylogenetic analysis of the class Sporozoa (Phylum Apicomplexa LEVINE, 1970) : evidence for the independent evolution of heteroxenous life cycles. *Journal of Parasitology*, 1989, **75** : 195-206.
21. BARTON (C.L.), RUSSO (E.A.), CRAIG (T.M.), GREEN (R.W.). 1985. Canine hepatozoonosis : a retrospective study of 15 naturally occurring cases. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 1985, **21** : 1, 125-134.
22. BASILE (C.). 1911. L'*Hemogregarina canis* in Italia. *Rend. R. Adad. Lincei*, 1911, **20** : 730.
23. BEAUFILS (J.P.). 1997. Hépatozoonose canine. *Encyclopédie Vétérinaire* (Elsevier Paris), 1997, Médecine Générale, 1300, 5p.
24. BEAUFILS (J.P.), LEGROUX (J.P.). 1992. Présence simultanée de *Ehrlichia sp.* et d'*Hepatozoon canis* dans des granulocytes de chien à propos de 2 cas. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, 1992, **27** : 1, 81-86.
25. BEAUFILS (J.P.), MARTIN-GRANEL (J.). 1987. Polyparasitisme chez un chien avec passage de Leishmanies dans le sang circulant. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, 1987, **22** : 5, 381-385.

26. BEAUFILS (J.P.), MARTIN-GRANEL(J.). 1988. L'Hépatozoonose canine. Première partie : étude bibliographique. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, Mars-Avril 1988, **23** : 2, 127-137.
27. BEAUFILS (J.P.), MARTIN-GRANEL (J.), BERTRAND (F.). 1988. Hépatozoonose canine . Deuxième partie : à propos de 28 cas. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, Juillet-Août 1988, **23** : 4, 281-293.
28. BEAUFILS (J.P.), MARTIN-GRANEL (J.), BERTRAND (F.). 1991. Atteinte médullaire sélective et hématopoïèse extra-médullaire chez un chien infecté par *Ehrlichia canis* et *Hepatozoon canis*. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, 1991, **26** : 4, 347-353.
29. BEAUFILS (J.P.), MARTIN-GRANEL (J.), JUMELLE (P.). 1996. Hépatozoonose chez le chien et le renard : épidémiologie, clinique et traitement. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, 1996, **313** : 243-253.
30. BEAUFILS (J.P.), MARTIN-GRANEL (J.), JUMELLE (P.). 1998. *Hepatozoon spp.* parasitemia and feline leukomia virus in two cats. *Feline Practice*, 1998, **26** : 3, 10-13.
31. BENTLEY (C.A.). 1905. Preliminary note on a *Leucocytozoon* of the dog. *British Medical Journal*, 1905, **1** : 988.
32. BISHOPP (F.C.), TREMBLEY (H.L.). 1945. Distribution and hosts of certain North American ticks. *Journal of Parasitology*, 1945, **31** : 1-54.
- 32b. BISHOPP (F.C.), HIXSON (H.). 1936. Biology and economic importance of the Gulf Coast Tick. *Journal of Economic Entomology*, 1936, **29** : 6, 1068-1076.
33. BOURDEAU (P.). 1993. Les tiques d'importance médicale et vétérinaire . Première partie: principales caractéristiques morphologiques et biologiques et leurs conséquences. *Le Point Vétérinaire*, 1993, **25** : 151, 13-26.
34. BOURDEAU (P.). 1993. Les tiques d'importance médicale et vétérinaire : principales espèces de tiques dures. *Le Point Vétérinaire*, 1993, **25** : 151, 27-41.
35. BROCKLESBY (D.W.), VIDLER (B.O.). 1963. Some new host record for *Hepatozoon* species in Kenya. *Veterinary Record*, 1963, **75** : 1265.
36. BUSSIERAS (J.), CHERMETTE (R.). 1991. Abrégé de Parasitologie Vétérinaire. Fascicule IV : Entomologie. Maisson-Alfort : Service de Parasitologie ENVA, 1991.
37. BUSSIERAS (J.), CHERMETTE (R.). 1992. Abrégé de Parasitologie Vétérinaire. Fascicule II : Protozoologie Vétérinaire. Maisson-Alfort : Service de Parasitologie, ENVA, 1992, 186 p..
38. CABASSU (J.P.), HAROUTUNIAN (G.), RANQUE (M.). 1981. Etude d'un foyer d' *Hepatozoon canis* (James, 1905) dans la région marseillaise. Réunion de la Société Française de Parasitologie. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Décembre 1981.

39. CALMON (J.P.). 1995. Hépatozoonose canine : étude dans un chenil infesté. *Le Point Vétérinaire*, 1995, **27** : 171, 85-90.
40. CARLOS (E.T.), ATIENZA (L.M.), CABILES (C.C.). 1971. A report of the presence of *Hepatozoon canis* in the Philippines. *The Philippines Journal of Veterinary Medicine*, 1971, **10** : 181-189.
41. CHRISTOPHERS (S.R.). 1906. *Leucocytozoon canis*. *Scientific Memoirs by Officers of the Medical and Sanitary Departments of the Government of India*, 1906, **26** : 1-18.
42. CHRISTOPHERS (S.R.). 1907. The sexual cycle of *Leucocytozoon canis* in the tick. *Scientific Memoirs by Officers of the Medical and Sanitary Departments of the Government of India*, 1907, **28** : 1-14.
43. CHRISTOPHERS (S.R.). 1912. The development of *Leucocytozoon canis* in the tick with a reference to the development of piroplasma. *Parasitology*, 1912, **5** : 37-48.
44. CLARK (J.M.). 1958. *Hepatozoon griseisciuri* n.sp., a new specie of *Hepatozoon* from Grey Squirrel (*Sciurus carolinensis*) with studies on the life cycle. *Journal of Parasitology*, 1958, **44** : 52-63.
45. CONCEICAO-SILVA (F.M.), ABRANCHES (P.), SILVA-PEREIRA (M.C.D.), JANZ (J.G.). 1988. Hepatozoonosis in foxes from Portugal . *Journal of Wild Life Diseases* , 1988, **24** : 2, 344-347.
46. CRAIG (T.M.).1990. Hepatozoonosis. In : GREENE (C.E.), *Infectious Diseases of the dog and cat*. Philadelphia : W.B SAUNDERS Company, 1990, section V, chap 80, 778-785.
47. CRAIG (T.M.). 1998. Hepatozoonosis. In : GREENE (C.E.), *Infectious Diseases of the dog and cat*. Philadelphia : W.B.SAUNDERS Company, 1998, second edition, 458-465.
48. CRAIG (T.M.), JONES (L.P.), NORDGREN (R.M.). 1984. Diagnosis of *Hepatozoon canis* by muscle biopsy. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 1984, **20** : 2, 301-303.
49. CRAIG (T.M.), SMALLWOOD (J.E.), KNAUER (K.W.), Mc GRATH (J.P.). 1978. *Hepatozoon canis* infection in dogs : clinical, radiographic and hematologic findings. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1978, **173** : 8, 967-972.
50. DAVIS (D.S.), ROBINSON (R.M.), CRAIG (T.M.). 1978. Naturally occurring hepatozoonosis in a coyote. *Journal of Wild Life Diseases*, 1978, **4** : 247-249.
51. DEINERT (M.), KRAFT (W.), GOTHE (R.). 1997. *Hepatozoon canis* infection in dogs in Germany ; case report and epidemiology. *Tierarztlche Praxis*, 1997, **25** : 3, 254-256.
52. DESSER (S.S.). 1990. Tissue « cysts » of *Hepatozoon griseisciuri* in the grey squirrel, *Sciurus carolinensis* : the significance of these cysts in species of *Hepatozoon*. *Journal of Parasitology*, 1990, **76** : 2, 257-259.

53. DESSER (S.S.), HONG (H.), MARTIN (D.S.). 1995. The life history, ultrastructure and experimental transmission of *Hepatozoon catesbiana* n. comb., an apicomplexan parasite of the bullfrog, *Rana catesbeiana* and the mosquito, *Culex territans* in Algonquin Park, Ontario. *Journal of Parasitology*, 1995, **81** : 2, 212-222.
54. DISSANAIKE (A.S.). 1961. *Hepatozoon canis* infections in dogs in Ceylon. *The Ceylon Veterinary Journal*, 1961, **9** : 4, 144-145.
55. DOMINA (F.), CATARSINI (S.O.). 1982. *Hepatozoon canis* : Rilievo occasionale di 9 casi. *Atti della Società Italiana delle Scienze Veterinarie*, 1982, **36** : 358-360.
56. DROLESKEY (R.E.), MERCER (S.H.), DELOACH (J.R.), CRAIG (T.M.). 1993. Ultrastructure of *Hepatozoon canis* in the dog. *Veterinary Parasitology*, 1993, **50** : 1-2, 83-99.
57. DUBEY (J.P.), BLAGBURN (B.L.). 1995. Advances in Veterinary Parasitology. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 1995, **17** : 4, 469-470.
58. DUBEY (J.P.), BWANGAMOI (O.). 1994. *Microbesnoitia leoni* Bwangamoi 1989 from the african lion (*Panthera leo*) redetermined as a junior synonym of *Hepatozoon canis* (JAMES 1905) Wenyon 1926. *Journal of Parasitology*, 1994, **80** : 2, 333-334.
59. DURDEN (L.A.), LUCKHART (S.), MULLEN (G.R.), SMITH (S.). 1991. Tick infestations of white-tailed deer in Alabama. *Journal of Wildlife Diseases*, 1991, **27** : 606-614.
60. ELIAS (E.), HOMANS (P.A.). 1988. *Hepatozoon canis* infection in dogs : clinical and haematological findings ;treatment. *Journal of Small Animal Practice*, 1988, **26** :1, 55-62.
61. EUZEBY (J.). 1986. Protozoologie médicale comparée vol. I. Lyon : Fondation Rhône-Mérieux, 1986, 463p..
62. EUZEBY (J.). 1987. Protozoologie médicale comparée vol. II. Lyon : Fondation Rhône-Mérieux, 1987, 475p..
63. EWING (G.O.). 1977. Granulomatous cholangiohepatitis in a cat due to a protozoan parasite resembling *Hepatozoon canis*. *Feline Practice*, 1977, **7**: 6, 37-40.
64. EWING (S.A.), DUBOIS (J.G.), MATHEW (J.S.), PANCIERA (R.J.). 2002. Larval Gulf Coast Ticks (*Amblyomma maculatum*) [Acari : Ixodidae] as host for *Hepatozoon americanum* [Apicomplexa : Adeleorina]. *Veterinary parasitology*, 2002, **103** : 1-2, 43-51.
65. EWING (S.A.), PANCIERA (R.J.), MATHEW (J.S.), CUMMINGS (C.A.), KOCAN (A.A.). 2000. American canine hepatozoonosis. An emerging disease in the New World. *Annals of the New York Academy of Science*, 2000, **916** : 81-92.

66. EZEOKOLI (C.D.), OGUNKOYA (A.B.), ABDULLAHI (R.), TEKDEK (L.B.), SANNUSI (A.), ILEMOBADE (A.A.). 1983. Clinical and epidemiological studies on canine hepatozoonosis in Zairia, Nigeria. *Journal of Small Animal Practice*, 1983, **24** : 7, 455-460.
67. GARCIA (P.), ACEDO (M.C.), LOPEZ (J.J.), SANCHIS (M.C.), MORILLAS (F.). 1990. Identificación de *Hepatozoon canis* (James 1905) en España. Estudio epidemiológico de una enzootia en la Carolina (Jaén, España). *Investigación Agraria : Producción y Sanidad Animal*, 1990, **5** : 3, 75-89.
68. GAUNT (P.S.), GAUNT (S.D.), CRAIG (T.M.). 1983. Extreme neutrophilic leukocytosis in a dog with hepatozoonosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1983, **182** : 4, 409-410.
69. GEVREY (J.). 1993. *Hépatozoonose canine*. Recueil de Médecine Vétérinaire. *Spécial Helminthoses- Protozooses*, Mai-Juin 1993, **169** : 5-6, 451-455 .
70. GONDIM (L.F.P.), KOHAYAGAWA (A.), ALENCAR (N.X.), BIONDO (A.W.), TAHAHIRA (R.K.), FRANCO (S.R.V.). 1998. Canine hepatozoonosis in Brazil : description of eight naturally occurring cases. *Veterinary Parasitology*, 1998, **74** : 2-4, 319-323.
71. GOSSET (K.A.), GAUNT (S.D.), AJA (D.S.). 1985. Hepatozoonosis and ehrlichiosis in a dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 1985, **21** : 2, 265-267.
72. GUPTA (M.P.), NAVRIYAL (D.C.), JUYAL (P.D.), KALRA (I.S.), KHAHRA (S .S.). 1994. Therapeutic trials of *Hepatozoon canis* infection in dogs. *Indian Veterinary Journal*, 1994, **71** : 12, 1221-1224.
73. HARMELIN (A.), DUBEY (J .P.), YAKOBSON (B.), NYSKA (A.), ORGAD (U.). 1992. Concurrent *Hepatozoon canis* and *Toxoplasma gondii* infections in a dog. *Veterinary Parasitology*, 1992, **43** : 1-2, 131-136.
74. HERVAS (J.), CARRASCO (L.), GOMEZ-VILLAMANDOS (J.C.), MENDEZ (A.), SIERRA (M.A.). 1995. Acute fatal hepatozoonosis in a puppy : histopathological and ultrastructural study. *Veterinary Record*, 1995, **137** : 518-519.
75. HERVAS (J.), CARRASCO (L.), SIERRA (M.A.), MENDEZ (A.), GOMEZ-VILLAMANDOS (J.C.). 1997. Ultrastructural findings in natural canine hepatozoonosis. *Journal of Veterinary Medicine*, Series B, 1997, **44** : 2, 119-125.
76. HOSKINS (J.D.). 1991. Canine Haemobartonellosis, Canine Hepatozoonosis and Feline Cytauxzoonosis in : Tick-Transmitted Diseases. *Veterinary-Clinics of North America*, *Small Animal Practice* 1991, **21** : 1, 129-140.
77. IBRAHIM (N.D.G.), RAHAMATHULLA (P.M.), NJOKU (C.O.). 1989. Neutrophil myeloperoxidase deficiency associated with canine hepatozoonosis. *International Journal for Parasitology*, 1989, **19** : 8, 915-918.

78. INOKUMA (H.), OHNO (K.), YAMAMOTO (S.). 1999. Serosurvey of *Ehrlichia canis* and *Hepatozoon canis* infection in dogs in Yamaguchi prefecture, Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 1999, 61 : 10, 1153-1155.
79. INOKUMA (H.), TAMURA (K.), ONISHI (T.). 1995. Incidence of brown dog ticks, *Rhipicephalus sanguineus*, at a kennel in Oklahoma prefecture. *Journal of Veterinary Medical Science*, 1995, 57 : 3, 567-568.
80. JAMES (S.P.). 1905. On a parasite found in the white corpuscles of the blood of dogs. *Scientific Memoirs by Officers of the Medical and Sanitary Departments of the Government of India*, 1905, 14 : 1-12.
- 80b. JAUREGI-LATORRE (E.), LOPEZ-GIRON (M.). 1995. Canine hepatozoonosis. *Veterinary International*, 1995, 7 : 31-40.
81. JOYEUX (C.), SAUTET (J.), CABASSU (J.). 1937. Présence d'*Hepatozoon canis* (JAMES) chez les chiens de Marseille. *Bulletin dela Société de Pathologie Exotique*, 1937, 30 : 680.
82. KEYMER (I.F.). 1964. *Hepatozoon* species in wild african mammals. *Veterinary Record*, 1964, 76 : 23, 641.
83. KLOPFER (U.), NEUMANN (F.), NOBEL (T.A.). 1974. *Hepatozoon canis* infection in dogs in Israel. *Refuah Veterinarith*, 1974, 30 : 3-4, 116-120.
84. KLOPFER (U.), NOBEL (T.A.), NEUMANN (F.). 1973. Hepatozoon-like parasite (schizonts) in the myocardium of the domestic cat. *Veterinary Pathology* , 1973, 10 : 3, 185-190.
85. KOCAN (A.A.), BRESHEARS (M.A.), CUMMINGS (C.A.), PANCIERA (R.J.), EWING (S.A.), BARKER (R.W.). 1999. Naturally occurring hepatozoonosis in coyotes from Oklahoma. *Journal of Wild Life Diseases*, 1999, 35 : 1, 86-89.
86. KOCAN (A.A.), CUMMINGS (C.A.), PANCIERA (R.J.), MATHEW (J.S.), EWING (S.A.), BARKER (R.W.). 2000. Naturally occurring and experimentally transmitted *Hepatozoon americanum* in coyotes from Oklahoma. *Journal of Wild Life Diseases*, 2000, 36 : 1, 149-153.
87. KONTOS (V.), KOUTINAS (A.). 1990. Canine hepatozoonosis : a review of 11 naturally occurring cases. *Deltion tes Ellekines Kteniatrikes Etaireias = Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 1990, 42 : 2, 73-81.
88. KRAMPITZ (H.E.), HABERKORN (A.). 1988. Experimental treatment of *Hepatozoon* infections with the anticoccidial agent toltrazuril. *Journal of Veterinary Medecine*, 1988, 35 : 2, 131-137.
89. LANDAU (I.), MICHEL (J.C.), CHABAUD (A.G.), BRYGOO (E.R.). 1972. Cycle biologique d'*Hepatozoon domergeui*, discussion sur les caractères fondamentaux d'un cycle de coccidie. *Zeitschrift fur Parasitenkunde*, 1972, 38 : 250-270.

90. LANE (J.R.), KOCAN (A.A.). 1983. *Hepatozoon* sp. infection in bobcats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1983, **183** : 11, 1323-1324.
91. LAPPIN (M.R.), ETTINGER (S.J.), FELDMAN (E.C.). 2000. Protozoal and miscellaneous infections, in Textbook of Veterinary Internal Medicine : diseases of the dog and cat. ed 5. Philadelphia : W.B. Saunders, 2000, 408-417.
92. LEVINE (N.D.). 1961. Protozoan parasites of domestic animals and of men. Minneapolis, Burgess Publishing Company, 1961.
93. LEVINE (N.D.). 1982. Some corrections in haemogregarine (Apicomplexa : protozoa) nomenclature. *Journal of Protozoology*, 1982, **29** : 4, 601-603.
94. LEVINE (N.D.). 1988. The Protozoan Phylum Apicomplexa. Boca Raton, Florida : CRC Press Incorporated, 1988, pp. 115-134.
95. MACINTIRE (D.K.), VINCENT-JOHNSON (N.). 2000. Canine hepatozoonosis. In Kirk's current veterinary therapy. XIII : Small Animal Practice. Philadelphia : W.B. Saunders, 2000, 310-313.
96. MACINTIRE (D.K.), VINCENT-JOHNSON (N.A.), KANE (C.W.), LINDSAY (D.S.), BLAGBURN (B.L.), DILLON (A.R.). 2001. Treatment of dogs infected with by *Hepatozoon americanum* : 53 cases (1989-1998). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2001, **218** : 1, 77-82.
97. MACINTIRE (D.K.), VINCENT-JONHSON (N.), DILLON (A.R.), BLAGBURN (B.L.), LINDAY (D.), WHITLEY (E.M.), BANFIELD (C.). 1997. Hepatozoonosis in dogs : 22 cases (1989-1994) . *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1997, **210** : 7, 916-922.
98. MAEDE (Y.). 1982. *Hepatozoon* infection in wild fox (*Vulpes vulpes schrencki* KISHIDA) in Japan. *Japanese Journal of Veterinary Science*, 1982, **44** : 137-142.
99. MAKIMURA (S.), KINJO (H.). 1991. Cytochemical identification of canine circulating leucocytes parasited with the gametocyte of *Hepatozoon canis*. *Journal of Veterinary Medical Science*, 1991, **53** : 5, 963-965.
100. MAKIMURA (S.), KINJO (H.), MATOVELO (J.A.), OGAWA (H.) et al.. 1991. Three cases of *Hepatozoon canis* infection in Miyazaki prefecture. *Journal of the Japan Veterinary Medical Association*, 1991, **44** : 9, 928-932.
101. MANWELL (R.D.). 1977. Gregarines and Haemogregarines. In : KREIER (J.P.), Parasitic Protozoa. New-York : Academic Press, 1977, Vol. III, 1-32.
102. MATHEW (J.S.), BUSSCHE (R.A.) van den, EWING (S.A.), MALAYER (J.R.), LATHA (B.R.), PANCIERA (R.J.). 2000. Phylogenetic relationships of *Hepatozoon* (Apicomplexa : Adeleorina) based on molecular, morphologic and lifecycle characters. *Journal of Parasitology*, 2000, **86** : 2, 366-372.

103. MATHEW (J.S.), EWING (S.A.), PANCIERA (R.J.), KOCAN (A.A.). 1999. Sporogonic development of *Hepatozoon americanum* (Apicomplexa) in its definitive host, *Amblyomma maculatum* (Acarina). *Journal of Parasitology*, 1999, **85** : 6, 1023-1031.
104. MATHEW (J.S.), EWING (S.A.), PANCIERA (R.J.), WOODS (J.P.). 1998. Experimental transmission of *Hepatozoon americanum* Vincent-Johnson et al. 1997 to dogs by the Gulf Coast tick, *Amblyomma maculatum* Koch. *Veterinary Parasitology*, 1998, **80** : 1, 1-14.
105. MATHEW (J.S.), SALIKI (J.T.), EWING (S.A.), LEHENBAUER (T.W.), PANCIERA (R.J.), MALAYER (J.R.), CUMMINGS (C.A.), KOCAN (A.A.). 2001. An indirect enzyme linked immunosorbent assay for diagnosis of American canine hepatozoonosis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigations*, 2001, **13** : 1, 17-21.
106. McCULLY (R.M.), BASSON (P.A.), BIGALKE (R.D.), DE VOS (V.), YOUNG (E.). 1975. Observations on naturally acquired hepatozoonosis of wild carnivores and dogs in the republic of South Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 1975, **42** : 4, 117-133.
107. MERCER (S.H.), CRAIG (T.M.). 1988. Comparison of various staining procedures in the identification of *Hepatozoon canis* gamonts. *Veterinary Clinical Pathology*. 1988, **17** : 3, 63-65.
108. MERCER (S.H.), JONES (L.P.), RAPPOLE (J.H.), TWEDT (D.), LAACK (L.L.), CRAIG (T.M.). 1988. *Hepatozoon* sp. in Wild Carnivores in Texas. *Journal of Wild Life Diseases*, 1988, **24** : 3, 574-576.
109. MILLER (W.W.). 1908. *Hepatozoon perniciosum* n.g., n.sp., a haemogregarine pathogenic for white rats ; with a brief description of the sexual cycle in the intermediate host, a mite (*Laelaps echidninus* Berlese). *Bulletin of Hygiene laboratory. Washington*, 1908, **46** : 51-123.
110. MOCK (D.E.). 1995. Gulf Coast ticks, *Amblyoma maculatum* in Kansas. *Kansas State University Cooperative Extension Service Bulletin*, pp. 1-4.
111. MUNDIM (A.V.), JACOMINI (J.O.), MUNDIM (M.J.S.) et al.. 1992. *Hepatozoon canis* (James 1905) in dogs from Uberlandia, Minas Gerais : Report of 2 cases. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 1992, **29** : supplemento, 359-361.
112. MUNDIM (A.V.), MUNDIM (M.J.S.), JENSEN (N.M.P.), ARAUJO (S.F.). 1994. *Hepatozoon canis* : retrospective studie of 22 natural cases of infection in dogs from Uberlandia. *Rev. Cent. Cienc. Bromed. Univ. Fed. Uberlandia*, 1994, **10** : 89-95.
113. MURATA (T.), AMIMOTO (A.), SHIRAMIZU (K.), HARA (Y.) et al. . 1993. Survey on canine *Hepatozoon canis* infection in the western part of Yamaguchi prefecture. *Journal of the Japan Veterinary Medical Association*, 1993, **46** : 5, 395-397.

114. MURATA (T.), INOUE (M.), KANOE (M.) et al. 1993. Ultrastructure and cytochemical characteristics of leucocyte infected with *Hepatozoon canis*. *Journal of the Veterinary Medical Science*, 1993, **55** : 6, 1043-1045.
115. MURATA (T.), INOUE (M.), KANOE (M.), HORIO (M.), SHIMADA (M.), YOKOYAMO (M.), TAURA (Y.), NAKAMA (S.). 1993. Fine structure of gamont of *Hepatozoon canis*. *Japanese Journal of Tropical Medecine and Hygiene*, 1993, **21** : 2, 107-110.
116. MURATA (T.), INOUE (M.), TATEYAMA (S.), TAURA (Y.), NAKAMA (S.). 1993. Vertical transmission of *Hepatozoon canis* in dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, 1993, **55** : 5, 867-868.
117. MURATA (T.), INOUE (M.), TAURA (Y.), NAKAMA (S.), ABE (H.), FUJISAKI (K.). 1995. Detection of *Hepatozoon canis* oocyst from ticks collected to the infected dogs. *Journal of the Veterinary Medical Science*, 1995, **57** : 1, 111-112.
118. MURATA (T.), SHIMODA (K.), INOUE (M.), SHIRAMIZU (K.), KANOE (M.), TAURA (Y.), NAKAMA (S.). 1993. Seasonal periodical appearance of *Hepatozoon canis* gamont in the peripheral blood. *Journal of Veterinary Medical Science*, 1993, **55** : 5, 877-879.
119. MURATA (T.), SHIRAMIZU (K.), HARA (Y.), INOUE (M.), SHIMODE (K.), NAKAMA (S.). 1991. First case of *Hepatozoon canis* infection of a dog in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 1991, **53** : 6, 1097-1099.
120. NORDGREN (R.M.), CRAIG (T.M.). 1984. Experimental transmission of the Texas strain of *Hepatozoon canis*. *Veterinary Parasitology*, 1984, **16** : 3-4, 207-214.
121. O'DWYER (L.H.), MASSARD (C.L.), SOUZA (J.C.P.). 2001. *Hepatozoon canis* infection associated with dog ticks of rural areas of Rio de Janeiro State, Brazil. *Veterinary parasitology*, 2001, **94** : 3, 143-150.
122. OGUNKOYA (A.B.), ADEYANJU (J.B.), ALIU (Y.O.). 1981. Experiences with the use of Imizol in treating canine blood parasites in Nigeria. *Journal of Small Animal Practice*, 1981, **22** : 12, 775-777.
123. PANCIERA (R.J.), EWING (S.A.), MATHEW (J.S.), CUMMINGS (C.A.), KOCAN (A.A.), BRESHEARS (M.A.), FOX (J.C.). 1998. Observations on tissue stages of *Hepatozoon americanum* in 19 naturally infected dogs. *Veterinary Parasitology*, 1998, **78** : 4, 265-276.
124. PANCIERA (R.J.), EWING (S.A.), MATHEW (J.S.), LEHENBAUER (T.W.), CUMMINGS (C.A.), WOODS (J.P.). 1999. Canine hepatozoonosis : comparison of lesions and parasites in skeletal muscle of dogs experimentally or naturally infected with *Hepatozoon americanum*. *Veterinary Parasitology*, 1999, **82** : 4, 261-272.
125. PANCIERA (R.J.), GATTO (N.T.), CRYSTAL (M.A.), HELMAN (R.G.), ELY (R.W.). 1997. Canine hepatozoonosis in Oklahoma. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 1997, **33** : 3, 221-225.

126. PANCIERA (R.J.), MATHEW (J.S.), CUMMINGS (C.A.), DUFFY (J.C.), EWING (S.A.), KOCAN (A.A.). 2001. Comparison of tissues stages of *Hepatozoon americanum* using immunohistochemical and routine histologic methods. *Veterinary parasitology*, 2001, **38** : 4, 422-426.
127. PANCIERA (R.J.), MATHEW (J.S.), EWING (S.A.), CUMMINGS (C.A.), DROST (W.T.), KOCAN (A.A.). 2000. Skeletal lesions of canine hepatozoonosis caused by *Hepatozoon americanum*. *Veterinary Pathology*, 2000, **37** : 3, 225-230.
128. PARRA (M.), ARRAGA (A.) de. 1996. Canine hepatozoonosis in Venezuela. Clinical and laboratory findings . *Revista Científica. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad del Zulia*, 1996, **6** : 2, 125-133.
129. PAU (S.), LEONI (A.), ARRU (E.), VALENZA (F.), GUARDA (F.). 1982. Anatomia patologica dell'infezione da *Hepatozoon canis*. *Scheizer Archiv fur Tierheilkunde*, 1980, **124** : 10, 517-527.
130. PAU (S.), ZEDDA (M.T.). 1983. Osservazioni sulla presenza di *Hepatozoon canis* a livello placentare nella cagna. *Atti della Societa Italiana delle Scienze Veterinarie*, 1983, **37** : 307-310.
131. PENZHORN (B.L.), DE WALL (D.T.), LOPEZ-REBOLLAR (L.M.). 1992. Identification of some haemotozoa from lions. *Journal of South African Veterinary Association*, 1992, **63** : 96.
132. PENZHORN (B.L.), LANGE (A.L.). 1990. *Hepatozoon* and *Ehrlichia* in the same canine neutrophil. *Journal of the South African Veterinary Association*, 1990, **61** : 3, 95.
133. PINTORE (A.), SCALA (A.), LIGIOS (G.), SOLINAS (G.). 1997. *Hepatozoon canis* infections in dogs : clinical and epidemiological findings in Sardinia. *Praxis Veterinaria. Milano*, 1997, **18** : 4, 21-24.
134. PRATHABAN (S.), JAYATHANGARAJ (M.G.), RASHEED (A.M.A.), DHANAPALAN (P.), GNANAPRAKASAM (V.). 1992. Canine cerebral hepatozoonosis: a case report. *Indian Veterinary Parasitology*, 1992, **69** : 1, 67-68.
135. RAJAMANICHAM (C.), WIESENHUTTER (E.), ZIN (F.M.), HAMID (J.). 1984. The incidence of canine haematozoa in peninsular Malaysia. *Veterinary Parasitology*, 1984, **85** : 17, 151-157.
136. RAU (M.). 1925. *Haemogregarina canis*. *Veterinary Journal*, 1925, **81** : 293-307.
137. RHODAIN (F.), PEREZ (C.). 1985. Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Paris : MALOINE S.A. ed. 1985.
138. RIOUX (J.A.), GOLVAN (Y.J.), HOUIN (R.). 1964. Une observation d'infestation mixte à l'*Hepatozoon canis* (JAMES 1905) et *Leishmania « canis »* chez un chien de Sète (Hérault). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 1964, **39** : 131-135.

139. ROMAGNOLI (A.). 1959. Presenza di *Hepatozoon canis* in Sicilia. *Zooprofilassi*, 1959, **14** : 915.
140. ROSATI (S.). 1986. Segnalazione di *Hepatozoon canis* nella provincia di Imperia. *Annali della Facolta di Medicina Veterinaria di Torino*, 1986, **31** : 156-162.
141. SEMTNER (P.J.), HAIR (J.A.). 1973. Distribution seasonal abundance and hosts of the Gulf Coast tick in Oklahoma. *Annals of Entomology of the Society of America*, 1973, **66** : 1264-1268.
142. SHAMIR (M.), YACOBSON (B.), BANETH (G.), KING (R.), DAR VERKER (S.), MARKOVICS (A.), AROCH (I.). 2001. Antibodies to selected canine pathogens and infestation with intestinal helminths in golden jackals (*Canis aureus*) in Israel. *Veterinary Journal*, 2001, **162** : 1, 66-72.
143. SHKAP (V.), BANETH (G.), PIPANO (E.). 1994. Circulating antibodies to *Hepatozoon canis* demonstrated by immunofluorescence. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 1994, **6** : 1, 121-123.
144. SIDALL (M.E.). 1995. Phylogeny of Adeleid blood parasites with a partial systematic revision of the Haemogregarine Complex. *Journal of Eukariotic Microbiology*, 1995, **42** : 2, 116-125.
145. SILVA (M.C.), RODRIGUEZ (M.S.), ROSA (A.) et al.. 1999. *Hepatozoon canis* : first case in Buenos Aires, Argentina. *Revista de Medicina Veterinaria*. Buenos Aires. 1999, **80** : 6, 489-492.
146. SMALLWOOD (J.E.). 1978. Periosteal new bone formation associated with *Hepatozoon* gametocytes in 2 dogs : a preliminary report. *Journal of the American Veterinary Radiology Society*, 1978, **19** : 4, 142-143.
147. SMITH (T.G.). 1996. The genus *Hepatozoon* (Apicomplexa : Adeleina). *Journal of Parasitology*, 1996, **82** : 4, 565-585.
148. SMITH (T.G.), DESSER (S.S.). 1997. Phylogenetic analysis of the genus *Hepatozoon* Miller, 1908 (Apicomplexa : Adeleorina). *Systematic Parasitology*, 1997, **36** : 213-221.
149. SMITH (T.G.), DESSER (S.S.). 1997. Ultrastructural features of the gametogenic and sporogonic development of *Hepatozoon sipedon* (Apicomplexa : Adeleorina) : the applicability of ultrastructural data in differenciating among *Hepatozoon* species. *Parasite*, 1997, **2** : 141-151.
150. SMITH (S.S.), DESSER (S.), MARTIN (D.S.). 1994. The development of *Hepatozoon sipedon* n.sp. (Apicomplexa : Adeleina : Hepatozoïdae) in its natural host, the northern water snake (*Nerodia sipedon sipedon*), the culicine vectors, *Culex pipiens* and *Culex territans*, and an intermediate host, the northern leopard frog (*Rana pipiens*). *Parasitology Research*, 1994, **80** : 559-568.

151. SMITH (T.G.), KIM (B.), HONG (H.), DESSER (S.S.). 2000. Intraerythrocytic development of species of *Hepatozoon* infected ranid frogs : evidence for convergence of life cycle characteristics among apicomplexans. *Journal of Parasitology*, 2000, **86** : 3, 451-459.
152. SNODDY (E.L.), COONEY (J.C.). 1984. A new distribution record for Gulf Coast tick, *Amblyoma maculatum* (Acari : Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 1984, **21** : 242.
153. SOULSBY (E.J.L.). 1982. Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. Septième édition. London : Bailliere Tindall, 1982, 809p..
154. TABOADA (J.), MERCHANT (S.R.). 1995. Protozoal and Miscellaneous infections. In : ETTINGER (S.J.), FELDMAN (E.C.), quatrième édition, Philadelphia : W.B Saunders Company, 1995, vol 1, chap 68, 388-390.
155. TEEL (P.D.), HOPKINS (S.W.), DONAHUE (W.A.) et al.. 1998. Population dynamics of immature *Amblyoma maculatum* (Acari : Ixodidae) and other ectoparasites on meadowlarks and northern bobwhite quail resident to the coastal prairie of Texas. *Journal of Medical Entomology*, 1998, **35** : 483-488.
156. VAN AMSTEL (S.). 1979. Hepatozoonose in 'Kat. *Journal of the South African Veterinarian Association*, 1979, **50** : 215-216.
157. VERCROYSSSE (J.), PARENT (R.). 1982. Note sur 2 cas d'Hépatozoonose canine à Dakar. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 1982, **133** : 3, 183-185.
158. VILLEMIN (P.), DUBOR (M.), BELLANGEON (M.). 1984. Activité de l'Imodocarbe contre différentes protozooses et rickettsioses du chien et du chat. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 1984, **135** : 7, 441-448.
159. VINCENT-JOHNSON (N.), MACINTIRE (D.K.), BANETH (G.). 1997. Canine hepatozoonosis : pathophysiology, diagnosis and treatment. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 1997, **19** : 1, 51-65.
160. VINCENT-JOHNSON (N.), MACINTIRE (D.K.), LINDSAY (D.S.), LENZ (S.D.), BANETH (G.), SHKAP (V.), BLAGBURN (B.L.). 1997. A new *Hepatozoon* species from dogs : description of the causative agent of canine hepatozoonosis in North America. *Journal of Parasitology*, 1997, **83** : 6, 1165-1172.
161. WALL (R.), SHEARER (D.). 2001. Veterinary Ectoparasites : Biology, Pathology and Control. Second edition, Oxford : BlackwellScience Ltd, 2001, 262p.
162. WANER (T.), BANETH (G.), ZUCKERMAN (A.), NYSKA (A.). 1994. *Hepatozoon canis* : size measurement of the gametocyte using image analysis technology. *Comparative Heamatologie International*, 1994, **4** : 177-179.
163. WEISS (A.). 1988. Quel est votre diagnostic ? .*Point Vétérinaire*, 1988, **20** : 111, 75-76.

164. WENYON (C.M.). 1911. Oriental sore in Bagdad, together with observations on a gregarine in *Stegomyia fasciata*, the haemogregarine of dogs and the flagellates of horse flies. *Parasitology*, 1911, **4** : 273-340.
165. WENYON (C.M.). 1931. Experimental infection of dogs with *Hepatozoon canis*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1931, **25** : 6.
166. WENYON (C.M.). 1965. Protozoology. Vol. II. New-York : Hafner Publishing Company, 1965, 1561p. (Facsimile of 1926 edition).
167. WIEDL (S.C.). 1981. A new distribution record for *Amblyomma maculatum* (Acari : Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 1981, **18** : 170.
168. WOODY (B.J.), HOSKINS (J.D.). 1991. Tick information sheet. The Brown Dog Tick. Veterinary Clinics of North America. *Small Animal Practice*, 1991, **21** : 199-202.
169. YANAI (T.), TOMITA (A.), MASEGI (T.), ISHIKAWA (K.), IWASAKI (T.), YAMAZOE (K.), UEDA (K.). 1995. Histologic features of naturally occurring hepatozoonosis in wild martens (*Martes melampus*) in Japan. *Journal of Wild Life Diseases*, 1995, **31** : 2, 233-237.
170. YOUNG (E.). 1975. Some important parasitic and other diseases of lion, *panthera leo*, in the Kruger national park. *Journal of the South African Veterinary Association*, 1975, **46** : 2, 181-183.

TOULOUSE, 2002

NOM : PORTRON

PRENOM : VANESSA

**TITRE : L'HEPATOZOONOSE CANINE : SYNTHESE DES DONNEES
BIBLIOGRAPHIQUES**

RESUME : L'hépatozoonose canine est une maladie du chien souvent méconnue, pour laquelle 2 espèces d'*Hepatozoon* ont été reconnues comme agents étiologiques : *Hepatozoon canis* responsable de l'hépatozoonose canine sévissant en Europe, Asie, Afrique, Moyen-Orient, Amérique du Sud et *Hepatozoon americanum*, agent de l'hépatozoonose aux Etats-Unis.

Le chien s'infecte par l'ingestion d'une tique parasitée, *Rhipicephalus sanguineus* dans l'hépatozoonose à *H. canis*, *Amblyomma maculatum* pour *H. americanum*.

H. canis est responsable d'une maladie d'évolution capricieuse, dont le degré de gravité est extrêmement variable : parfois asymptomatique, elle peut aussi s'accompagner de signes cliniques graves. *H. americanum*, agent de la forme nord-américaine, provoque un tableau clinique beaucoup plus dramatique qu'ailleurs dans le monde et une issue souvent fatale.

Le diagnostic de l'infection par *H. canis* repose sur la mise en évidence du parasite sur frottis sanguin ou sur calque d'organe, tandis que la recherche du parasite sur biopsie musculaire est la méthode de choix pour le diagnostic de l'hépatozoonose à *H. americanum*.

Des tests sérologiques ont été récemment mis au point mais n'ont pas à l'heure actuelle été diffusés pour une utilisation courante.

Le traitement étiologique, dont l'efficacité reste discutée, fait appel à l'imidocarb dipropionate, au toltrazuril ou plus récemment à l'association de triméthoprim-sulfadiazine, clindamycine et pyriméthamine, suivie de l'administration au long cours de decoquinate.

MOTS-CLES : Hépatozoonose, *Hepatozoon canis*, *Hepatozoon americanum*, Chien, *Rhipicephalus sanguineus*, *Amblyomma maculatum*.

**ENGLISH TITLE : CANINE HEPATOZOONOSIS : A REVIEW OF
BIBLIOGRAPHICAL DATA.**

ABSTRACT : Canine hepatozoonosis is a disease in dogs which is not often well known. Two *Hepatozoon* species have been recognised as causative agents: *Hepatozoon canis* which is the cause of canine hepatozoonosis throughout Europe, Asia, Africa, the Middle-East and South America.; *Hepatozoon americanum*, known as the hepatozoonosis agent throughout the United States.

The dog is contaminated by ingestion of an infected tick : *Rhipicephalus sanguineus* in the case of *H. canis* and *Amblyomma maculatum* for *H. americanum*.

Hepatozoon canis is responsible for a disease which evolves in a waxing and waning course , ranging in severity from an asymptomatic infection to a life-threatening disease. *Hepatozoon americanum*, agent of the North American disease, provokes a more dramatic clinical syndrome than elsewhere in the world which often has a fatal outcome.

Hepatozoon canis infection is usually diagnosed by finding the parasite on blood smear or organ puncture, while detecting the parasite in a muscle biopsy is the usual method for diagnosis of *H. americanum* infection .

Serological tests have recently been developed but have not yet been diffused for current use.

The etiological treatment is not yet claimed to be satisfactorily efficient. It consists of using imidocarb dipropionate or toltrazuril, or more recently the association of trimethoprim-sulfadiazine, clindamycine and pyrimethamine followed by long-term administration of decoquinate.

KEY WORDS : Hepatozoonosis, *Hepatozoon canis*, *Hepatozoon americanum*, Dog, *Rhipicephalus sanguineus*, *Amblyomma maculatum*.